Supplemento ordinario alla "Gazzetta Ufficiale" n. 18 del 23 gennaio 1987 - Serie generale

Spedizione in abbonamento postale - Gruppo I (70%)

DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA **Roma - Venerdì, 23 gennaio 1987** SI PUBBLICA NEL POMERIGGIO DI TUTTI I GIORNI MENO I FESTIVI

DIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DI GRAZIA E GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE LEGGI E DECRETI - VIA ARENULA 70 - 00100 ROMA
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO - LIBRERIA DELLO STATO - PIAZZA G. VERDI 10 - 00100 ROMA - CENTRALINO 85081

N. 7

MINISTERO DELLA SANITÀ

DECRETO MINISTERIALE 22 dicembre 1986.

Modalità di prelevamento e trattamento dei campioni di prodotti cosmetici e approvazione di alcuni metodi di analisi necessari per controllare la composizione di tali preparati.

SOMMARIO

MINISTERO DELLA SANITÀ

DECRETI E ORDINANZE MINISTERIALI

MINISTERO DELLA SANITÀ

DECRETO MINISTERIALE 22 dicembre 1986.

Modalità di prelevamento e trattamento dei campioni di prodotti cosmetici e approvazione di alcuni metodi di analisi necessari per controllare la composizione di tali preparati.

IL MINISTRO DELLA SANITÀ

Vista la legge 11 ottobre 1986, n. 713, recante norme per l'attuazione delle direttive della Comunità economica europea sulla produzione e la vendita dei cosmetici;

Visti, in particolare, i commi 2 e 3 dell'art. 7 di detta legge, i quali stabiliscono che il Ministro della sanità, tenendo conto delle direttive comunitarie, determina con proprio decreto, fra l'altro, i metodi necessari per controllare la composizione dei prodotti cosmetici, nonché le modalità da seguire per il prelievo dei campioni;

Viste le direttive della Commissione delle Comunità europee n. 80/1335/CEE del 22 dicembre 1980, n. 82/434/CEE del 14 maggio 1982, n. 83/514/CEE del 27 settembre 1983 e n. 85/490/CEE dell'11 ottobre 1985, per il ravvicinamento delle legislazioni degli Stati membri relative ai metodi di analisi necessari per controllare la composizione dei prodotti cosmetici;

Visto il parere dell'Istituto superiore di sanità, favorevole al recepimento delle menzionate direttive comunitarie;

Decreta:

Art. 1.

Nel prelevamento di campioni di prodotti cosmetici e nel loro successivo trattamento, le competenti autorità devono attenersi alle norme contenute nell'allegato 1 al presente decreto.

Art. 2.

Nei controlli ufficiali dei prodotti cosmetici le competenti autorità devono attenersi ai metodi descritti nell'allegato 2, per quanto attiene alla identificazione e al dosaggio delle sostanze ivi contemplate.

Il presente decreto, unitamente ai due allegati, che fanno parte integrante dello stesso, sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, addì 22 dicembre 1986

Il Ministro: DONAT CATTIN

ALLEGATO 1

1. LA CAMPIONATURA DEI PRODOTTI COSMETICI

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Le presenti norme stabiliscono le modalità per la campionatura dei prodotti cosmetici, ai fini dell'analisi di tali prodotti nei diversi laboratori.

2. DEFINIZIONI

2.1. *Prelievo elementare:*
una unità di vendita al pubblico prelevata.

2.2. *Campione totale:*
l'insieme di tutti i prelievi elementari, recanti lo stesso numero di lotto di fabbricazione.

2.3. *Campione per laboratorio:*
aliquota rappresentativa del campione totale destinata al singolo laboratorio di analisi.

2.4. *Quantitativo per l'analisi:*
aliquota rappresentativa del campione per laboratorio necessaria per un'analisi.

2.5. *Contenitore:*
l'oggetto che contiene il prodotto e che si trova in costante diretto contatto con lo stesso.

3. PRELIEVO DEI CAMPIONI

3.1. I prodotti cosmetici sono prelevati nella loro confezione di origine e inviati tali e quali ai laboratori di analisi.

3.2. Il numero dei prelievi elementari necessari per costituire il campione per laboratorio dipende dai metodi di analisi e dal numero di analisi da effettuare.

4. IDENTIFICAZIONE DEI CAMPIONI

4.1. I campioni prelevati devono essere sigillati sul luogo stesso del prelievo e identificati secondo le norme appresso riportate.

4.2. Su ogni prelievo elementare devono figurare i seguenti dati:
- nome del prodotto cosmetico;
- data, ora e luogo del prelievo,
- numero del verbale di prelevamento;
- nome della persona che effettua il prelievo;
- indicazione dell'autorità che ha disposto il prelievo;
- firma di chi esegue il prelievo e del responsabile dell'azienda in cui avviene il prelievo stesso o di un suo rappresentante o del detentore della merce. Qualora questi ultimi si rifiutassero di firmare, del fatto deve farsi menzione nel verbale di prelevamento.

4.3. Le indicazioni previste dal punto 4.2 possono essere riportate anche su un cartellino assicurato al campione in modo da impedirne il distacco.

4.4. L'insieme dei prelievi elementari deve essere suddiviso in quattro parti equivalenti, ciascuna delle quali deve essere chiusa e sigillata, preferibilmente con piombini e con suggello recante impressa la dicitura dell'ufficio che ha disposto il prelievo.

4.5. Deve essere redatto verbale di prelevamento di campioni, contenente, oltre a tutti gli elementi di cui al punto 4.2.

a) il contenuto nominale;
b) il numero di lotto;
c) le modalità seguite nel prelievo;
d) la dichiarazione che il titolare dell'impresa o un suo rappresentante o il detentore ha trattenuto una copia del verbale e una parte del campione

e) la dichiarazione che il verbale è stato letto alla presenza dell'interessato titolare dell'impresa, rappresentante o detentore e che è stato sottoscritto anche dal medesimo, o che lo stesso si è rifiutato di sottoscriverlo;

f) le eventuali dichiarazioni del titolare dell'impresa o del rappresentante o del detentore sul nome e residenza del fornitore della merce e sulla data della consegna della merce medesima;

g) le eventuali altre osservazioni o dichiarazioni, anche se fatte dal titolare dell'impresa, dal rappresentante o dal detentore.

4.6. Una delle parti del campione prelevato viene consegnata, al momento del prelievo, al responsabile dell'esercizio o ad un suo rappresentante o al detentore della merce. Le altre tre, insieme al verbale di prelevamento, vengono inviate per le analisi, nel più breve tempo possibile, al laboratorio pubblico indicato dall'autorità che ha disposto il prelievo. Una di tali parti è utilizzata per l'analisi di prima istanza, l'altra è destinata all'eventuale analisi di revisione ed un'altra parte, infine, rimane di riserva per eventuali perizie ordinate dall'autorità giudiziaria.

5. CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

5.1. I prelievi elementari devono essere conservati alle condizioni indicate dal fabbricante sull'etichetta.

5.2. In mancanza di indicazioni specifiche, tutti i campioni per laboratorio dovranno essere conservati ad una temperatura compresa tra 10° e 25° C e al riparo dalla luce.

5.3. I prelievi elementari devono essere aperti soltanto all'inizio dell'analisi.

6. CAMPIONATURA DI MATERIE PRIME

Le norme precedenti disciplinano, in quanto applicabili, anche la campionatura di materie prime usate nella produzione di cosmetici.

II. TRATTAMENTO DEI CAMPIONI PER LABORATORIO

1. GENERALITÀ

1.1. **La determinazione analitica viene attuata su ciascun prelievo elementare o — qualora il quantitativo di questo sia troppo esiguo — sul minor numero possibile di prelievi elementari accuratamente mescolati tra di loro.**

1.2. Da ciascun contenitore, aperto sotto gas inerte quando richiesto dal relativo metodo di analisi, devono prelevarsi il più rapidamente possibile i quantitativi necessari per le analisi e queste ultime devono essere effettuate nel termine più breve. Se il campione deve essere conservato, richiudere con cura il contenitore previa addizione di un gas inerte.

1.3. **I cosmetici possono presentarsi in tre stati: liquido, pastoso, solido;**

può accadere che prodotti cosmetici condizionati alla partenza sotto forma omogenea presentino in seguito varie fasi corrispondenti agli stati suindicati; in tal caso occorre effettuarne l'omogenizzazione.

1.4. **Qualora un prodotto cosmetico sia confezionato in una forma speciale, e quindi non possa essere trattato conformemente alle presenti disposizioni, e qualora i relativi metodi di analisi non prevedano nulla di specifico, si può seguire un procedimento particolare, purché sia riportato per iscritto nel verbale d'analisi.**

2. PRODOTTI LIQUIDI

2.1. **In questo stato si ritrovano in particolare prodotti come:**

acque da toeletta, lozioni, soluzioni, oli, latti che possono essere confezionati in flaconi, bottiglie, fiale, tubi.

2.2. **Prelievo del quantitativo per analisi:**

- **agitare vigorosamente il recipiente prima dell'apertura,**
- **stappare,**
- **versare qualche ml del liquido in una provetta per un esame visivo delle sue caratteristiche in vista del successivo prelevamento,**
- **richiudere il recipiente,**
- **prelevare il quantitativo occorrente per l'analisi.**

3. PRODOTTI PASTOSI

3.1. In questo stato si ritrovano in particolare prodotti come:

paste, creme, emulsioni, gel che possono essere confezionati in tubi, flaconi a parete elastica, vasetti.

3.2. **Prelievo del quantitativo per analisi:**
possono presentarsi due casi:

3.2.1. Recipienti ad imboccatura stretta (tubo, flacone a parete elastica). Eliminare almeno il primo centimetro del prodotto da analizzare.
Prelevare il quantitativo per analisi e richiudere subito il recipiente.

3.2.2. Recipiente ad imboccatura larga (vasetto). Raschiare lievemente la superficie per eliminare lo strato superiore. Prelevare quindi il quantitativo per analisi e richiudere immediatamente il recipiente.

4. PRODOTTI SOLIDI

4.1. In questo stato si ritrovano in particolare prodotti come;

polveri, polveri compatte, bastoncini che possono essere confezionati in scatole o astucci.

4.2. Prelievo del quantitativo per analisi:
Possono presentarsi due casi:

4.2.1. Polvere. Agitare la polvere, se possibile, vigorosamente prima di stappare o aprire. Aprire e prelevare il quantitativo per analisi.

4.2.2. Polvere compatta o bastoncino. Eliminare, raschiando leggermente, lo strato superficiale del corpo solido e prelevare quindi il quantitativo per analisi.

5. PRODOTTI CONFEZIONATI SOTTO PRESSIONE DI GAS

5.1. Questi prodotti sono definiti dall'articolo 2 della direttiva 75/324/CEE del Consiglio del 20 maggio 1975(1).

5.2. **Prelievo del quantitativo per l'analisi**

Dopo essere stata vigorosamente agitata, una aliquota rappresentativa del contenuto è trasferita in un flacone di vetro plastificato trasparente, provvisto di una valvola aerosol, per mezzo di un elemento di trasferimento. Tale flacone non contiene tubo di ascensione. Con questo trasferimento il contenuto è reso visibile. Possono presentarsi quattro casi:

5.2.1. Il contenuto è una soluzione omogenea. Esso è quindi pronto per ulteriori analisi.

5.2.2. Il contenuto è composto di due fasi liquide. L'analisi di ciascuna fase può essere effettuata dopo aver travasato la fase inferiore in un secondo flacone. Tale fase è spesso acquosa e non contiene più propellente (caso butano/acqua). In questo caso, nel corso del trasferimento, il collo del flacone dovrà essere orientato verso il basso.

5.2.3. Il contenuto è costituito da una polvere in sospensione. Dopo aver eliminato la polvere si può procedere all'analisi della fase liquida.

5.2.4. Creme e schiuma. Introdurre preventivamente nel flacone di trasferimento una quantità di 2-metossietanolo (circa 5—10 g). Al momento della degassazione questa sostanza impedisce la formazione della schiuma e consente di separare i propellenti senza perdita di liquido.

5.3. **Accessori**

L'elemento di trasferimento P 1 (vedi figura 1) è realizzato in durallluminio o in ottone. Grazie ai suoi terminali maschi, può adattarsi a differenti sistemi di valvole tramite un raccordo in polietilene. Esso è descritto a titolo di esempio. Altri elementi di trasferimento possono essere impiegati (vedi figure 2 e 3).

Il flacone di trasferimento (vedi figura 4) è di vetro bianco rivestito esteriormente di strato protettivo plastificato trasparente. Ha una capacità da 50 a 100 ml. È munito di valvola priva del tubo di ascensione.

5.4. **Procedimento**

Per trasferire un quantitativo sufficiente di prodotto è necessario eliminare l'aria dal flacone di trasferimento. A tale scopo introdurre, mediante l'elemento di trasferimento,

(1) GU delle Comunità europee n. L 147 del 9. 6. 1975, pag. 40.

circa 10 ml di diclorodifluorometano o di butano (a seconda della natura dell'aerosol da esaminare). Successivamente degassare totalmente, fino alla scomparsa della fase liquida, tenendo il flacone con la valvola rivolta verso l'alto. Staccare l'elemento di trasferimento e tarare il flacone di trasferimento (a grammi). Agitare vigorosamente il contenitore dal quale si preleverà il campione.

Sistemare l'elemento di trasferimento sulla valvola del contenitore sotto pressione (la valvola rivolta verso l'alto), sistemare il flacone di trasferimento (con il collo verso il basso) sull'elemento di trasferimento e fare pressione.

Riempire il flacone di trasferimento all'incirca per 2/3. Qualora l'operazione di travaso si interrompa anzitempo, a causa dell'equilibrio delle pressioni, è possibile continuare l'operazione raffreddando il flacone di trasferimento.

Staccare l'elemento di trasferimento e determinare il peso del flacone; il peso del prodotto travasato è $m_1 = b-a$. Il prelievo così ottenuto può utilizzarsi:

1. per le consuete analisi chimiche,
2. per un'analisi gascromatografica delle sostanze volatili.

5.4.1. *Analisi chimica*

Mantenendo il flacone di trasferimento con il collo rivolto verso l'alto si eseguono le seguenti operazioni:

- degassare Qualora la degassazione provochi schiuma, utilizzare un flacone di trasferimento in cui, mediante una siringa, sia stato introdotto, attraverso l'elemento di trasferimento P 1, una quantità di 2-metossietanolo (circa 5—10 g) esattamente pesata;
- completare l'eliminazione quantitativa delle sostanze volatili agitando in un bagno termostato a 40° C e staccare l'elemento di trasferimento;
- pesare, in grammi, il flacone con il residuo (c) per determinare la massa del residuo stesso (m_2) ($m_2 = c-a$)
  (se necessario, per il calcolo della massa del residuo tenere conto della quantità di metossietanolo introdotta);
- aprire il flacone di trasferimento rimuovendo la valvola;
- sciogliere quantitativamente il residuo in un volume noto di solvente appropriato;
- effettuare su una parte il dosaggio voluto.

Formule per il calcolo:

$$R = \frac{r \cdot m_2}{m_1} \quad e \quad Q = \frac{R \cdot P}{100}$$

in cui

m_1 = massa del prodotto trasferito nel flacone di trasferimento,
m_2 = massa del residuo, dopo riscaldamento a 40° C,
r = percentuale della sostanza dosata in m_2 (determinata secondo un metodo adeguato),
R = percentuale della sostanza dosata nella totalità del prodotto,
Q = quantità assoluta totale della sostanza dosata nella totalità del prodotto,
P = massa netta del prodotto totale così come confezionato e prima dell'inizio delle manipolazioni.

5.4.2. *Analisi gascromatografica delle sostanze volatili*

5.4.2.1. Principio

Dal flacone di trasferimento si preleva un campione di quantità opportuna mediante la siringa da gas.

Il contenuto della siringa viene poi iniettato nel gascromatografo.

5.4.2.2. Accessori

Siringa da gas (figura 5) «precision Sampling» serie A2 (o siringa equivalente). Dalla parte dell'ago questa siringa è dotata di una valvola scorrevole. Il raccordo siringa-flacone di trasferimento è ottenuto mediante l'elemento di trasferimento dalla parte del flacone e mediante un tubo di polietilene (lunghezza 8 mm, diametro 2,5 mm) dalla parte della siringa.

5.4.2.3. Procedimento

Dopo aver trasferito una quantità appropriata di prodotto nel flacone di trasferimento mediante l'elemento di trasferimento adattare la siringa al flacone di trasferimento come

indicato al 5.4.2.2. Con la valvola di gas aperta aspirare una quantità appropriata di liquido. Eliminare le bollicine di gas facendo scorrere in su e in giù il pistone (se necessario raffreddare la siringa). Quando la siringa conterrà il liquido privo di bolle di gas, chiudere la valvola e staccare la siringa dal flacone di trasferimento.

Applicare alla siringa un ago, introdurre quest'ultimo nell'iniettore del gascromatografo, aprire la valvola e iniettare.

5.4.2.4. Standard interno

Se è necessario utilizzare uno standard interno, questo può essere introdotto nel flacone di trasferimento mediante l'elemento di trasferimento.

6. TRATTAMENTO DEI CAMPIONI DI MATERIE PRIME

Le norme precedenti disciplinano, in quanto applicabili, anche il trattamento dei campioni di materie prime usate nella produzione di cosmetici.

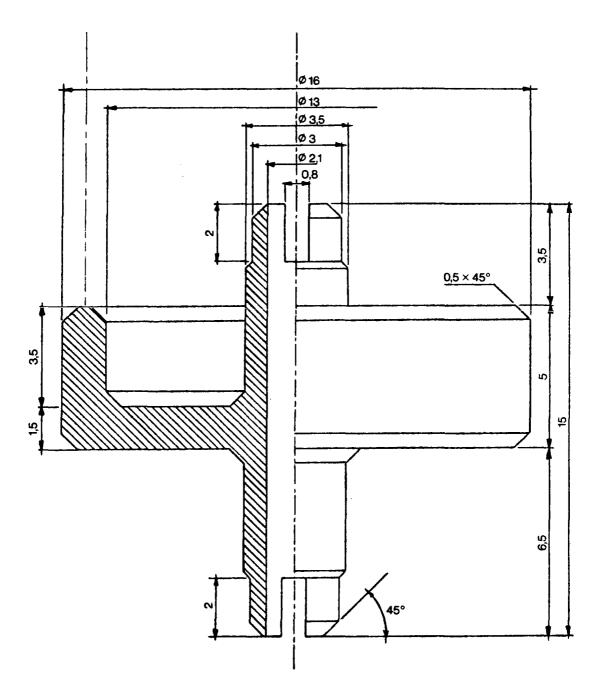



Figura 1
Elemento di trasferimento P 1

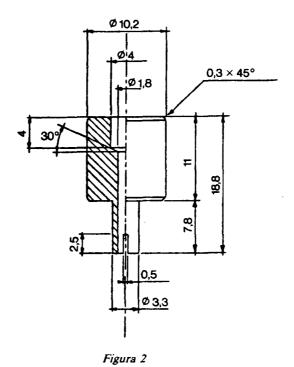



Figura 2

Manicotto M2

Raccordo per una valvola maschio e per una valvola femmina

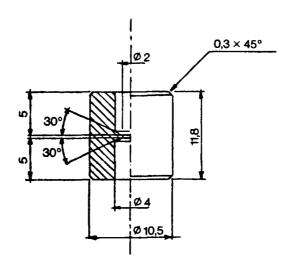



Figura 3

Manicotto M1

Raccordo per 2 valvole maschio

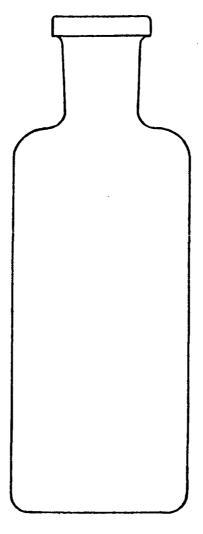



Figura 4

Flacone di trasferimento

Capacità da 50 a 100 ml

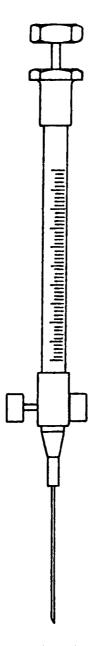



Figura 5

Siringa da gas

ALLEGATO 2

I. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DEGLI IDROSSIDI DI SODIO E DI POTASSIO LIBERI

1. SCOPO E CAMPO D'APPLICAZIONE

Il metodo serve per l'individuazione dei prodotti cosmetici contenenti quantità significative di idrossidi di sodio e/o di potassio liberi e per determinare tali sostanze nei prodotti per stirare i capelli e nei solventi della cuticola delle unghie.

2. DEFINIZIONE

L'idrossido di sodio o di potassio libero viene definito dal volume di acido a normalità nota necessario per neutralizzare il prodotto in condizioni determinate; la quantità risultante viene espressa come idrossido di sodio libero.

3. PRINCIPIO

Il campione viene dissolto o disperso in acqua e titolato con acido a normalità nota. La variazione del valore del pH viene determinata contemporaneamente all'aggiunta di acido: per una semplice soluzione di idrossido di sodio o di potassio il punto finale è indicato da una netta variazione del valore del pH registrato.

Una interferenza nella curva standard di titolazione può essere dovuta alla presenza di:

a) idrossido di ammonio o altre basi organiche deboli, aventi esse stesse una curva di titolazione piuttosto piatta. L'ammoniaca viene eliminata in questo caso con evaporazione a pressione ridotta ma a temperatura ambiente;

b) sali di acidi deboli, che possono produrre una curva di titolazione con numerosi punti di flesso. In questi casi soltanto la prima parte della curva, sino al primo punto di flesso corrisponde alla neutralizzazione degli ioni idrossile provenienti dall'idrossido di sodio o di potassio libero.

Esiste un procedimento alternativo per la titolazione nell'alcool, nei casi in cui risulti un'interferenza eccessiva di sali di acidi inorganici deboli.

Pur essendo in teoria possibile la presenza di altre basi forti solubili, ad esempio idrossido di litio, idrossido di ammonio quaternario, che causano un elevato pH, è assai improbabile riscontrare queste sostanze in tali tipi di preparati cosmetici.

4. IDENTIFICAZIONE

4.1. **Reattivi**

4.1.1. Soluzione tampone standard alcalina a pH 9,18 a 25° C: soluzione 0,05 M di sodio tetraborato decaidrato

4.2. **Apparecchiatura**

4.2.1. Normale vetreria di laboratorio
4.2.2. pH metro
4.2.3. Elettrodo di vetro
4.2.4. Elettrodo di riferimento al calomelano

4.3. **Procedimento**

Tarare l'apparecchio di misura utilizzando la soluzione tampone standard (4.1.1).

Preparare una soluzione o una dispersione al 10 % del prodotto da analizzare, in acqua, e filtrare. Misurare il pH; se il pH è uguale o superiore a 12 è necessario effettuare il dosaggio.

5. DOSAGGIO

5.1. **Titolazione in mezzo acquoso**

5.1.1. *Reattivi*

5.1.1.1. Soluzione titolata 0,1 N di acido cloridrico

5.1.2. *Apparecchiatura*

5.1.2.1. Normale vetreria di laboratorio
5.1.2.2. pH metro, preferibilmente con registratore
5.1.2.3. Elettrodo di vetro
5.1.2.4. Elettrodo di riferimento al calomelano

5.1.3. *Procedimento*

Pesare con esattezza in un becher da 150 ml un campione di 0,5—1 g. In presenza di ammoniaca, aggiungere alcune sferette di vetro, porre il becher in un essiccatore a vuoto, fare il vuoto con una pompa a caduta d'acqua sino a quando non sia più percepibile l'odore di ammoniaca (circa 3 ore).

Disciogliere o disperdere il residuo in 100 ml di acqua. Titolare con la soluzione 0,1 N di acido cloridrico (5.1.1.1), registrando le variazioni di pH (5.1.2.2).

5.1.4. *Calcolo*

Determinare i punti di flesso della curva di titolazione. Se il primo punto di flesso si riscontra ad un pH inferiore a 7 il campione è privo di idrossido di sodio o di potassio.

Se la curva presenta 2 o più punti di flesso, solo il primo va preso in considerazione.

Annotare il volume della soluzione titolante corrispondente a questo primo punto di flesso:

Siano V il volume della soluzione titolante, in ml

M il peso del campione in grammi. La concentrazione di idrossido di sodio e/o di potassio nel campione, espresso come % m/m di idrossido di sodio è calcolata con formula

$$\% \, NaOH = 0{,}4 \frac{V}{M}$$

Può accadere che pur risultando presente una quantità significativa di idrossido di sodio e/o di potassio, la curva di titolazione non indichi un punto distinto di flesso. In tal caso la determinazione va ripetuta utilizzando il seguente procedimento di titolazione in isopropanolo.

5.2. **Titolazione in isopropanolo**

5.2.1. *Reattivi*

5.2.1.1. Isopropanolo

5.2.1.2. Soluzione acquosa titolata 1,0 N di acido cloridrico

5.2.1.3. Soluzione 0,1 N di acido cloridrico in isopropanolo, preparata al momento dell'impiego diluendo la soluzione acquosa 1,0 N di acido cloridrico con isopropanolo.

5.2.2. *Apparecchiatura*

5.2.2.1. Vetreria di laboratorio

5.2.2.2. pH metro, preferibilmente con registratore

5.2.2.3. Elettrodo di vetro

5.2.2.4. Elettrodo di riferimento al calomelano

5.2.3. *Procedimento*

Pesare con esattezza in un becher da 150 ml un campione di 0,5—1,0 g.

In presenza di ammoniaca aggiungere alcune sferette di vetro, porre il becher in un essiccatore a vuoto, fare il vuoto utilizzando una pompa a caduta di acqua (circa 3 ore).

Disciogliere o disperdere il residuo in 100 ml di isopropanolo. Titolare la soluzione con 0,1 N di acido cloridrico in isopropanolo (5.2.1.3), registrando le variazioni di pH apparente (5.2.2.2).

5.2.4. *Calcoli*

Come al punto 5.1.4 il punto di flesso si riscontra per un pH apparente dell'ordine di 9.

5.3. **Ripetibilità** (1)

Per un contenuto dell'ordine del 5 % la differenza tra i risultati di due dosaggi paralleli effettuati su un medesimo campione non deve superare lo 0,25 %.

---

(1) Secondo la norma ISO/DIS 5725.

II. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DELL'ACIDO OSSALICO E DEI SUOI SALI ALCALINI NEI PRODOTTI PER LA CURA DEI CAPELLI

1. *Scopo e campo di applicazione*

Il metodo qui di seguito descritto serve all'identificazione ed al dosaggio dell'acido ossalico e dei suoi sali alcalini in prodotti destinati alla cura dei capelli.

Esso può essere utilizzato in soluzioni e lozioni incolori acquose o idroalcoliche, che contengono il 5 % circa di acido ossalico o una equivalente quantità di ossalato alcalino.

2. *Definizione*

Il contenuto del campione in acido ossalico e/o dei suoi sali alcalini determinato secondo questo metodo è espresso in % di peso di acido ossalico.

3. *Principio*

Dopo aver eliminato i tensioattivi anionici eventualmente presenti per mezzo di cloridrato di p-toluidina, si fa precipitare l'acido ossalico e/o gli ossalati sotto forma di ossalato di calcio e quindi si filtra la soluzione. Il precipitato viene poi sciolto nell'acido solforico e viene titolato con permanganato di potassio.

4. *Reattivi*

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Soluzione di acetato di ammonio al 5 % (m/m)
4.2. Soluzione di cloruro di calcio al 10 % (m/m)
4.3. Etanolo al 95 % (v/v)
4.4. Tetracloruro di carbonio
4.5. Etere dietilico
4.6. Soluzione di cloridrato di p-toluidina al 6,8 % (m/m)
4.7. Soluzione di permanganato di potassio 0,1 N
4.8. Acido solforico al 20 % (m/m)
4.9. Acido cloridrico al 10 % (m/m)
4.10. Acetato di sodio
4.11. Acido acetico glaciale
4.12. Acido solforico 1:1
4.13. Soluzione satura di idrossido di bario

5. *Apparecchiature*

5.1. Imbuti separatori da 500 ml
5.2. Bicchieri di vetro da 50 e da 600 ml
5.3. Crogioli filtranti in vetro G-4
5.4. Cilindri graduati da 25 e da 100 ml
5.5 Pipette da 10 ml
5.6. Bottiglie da aspirazione sotto vuoto da 500 ml
5.7. Pompa a caduta d'acqua
5.8. Termometro graduato da 0 a 100° C
5.9. Agitatore magnetico riscaldante
5.10. Barre magnetiche rivestite di teflon
5.11. Buretta da 25 ml
5.12. Bottiglie coniche da 250 ml

6. *Procedimento*

6.1. Pesare da 6 a 7 g del campione in un bicchiere di vetro da 50 ml, regolare su pH3 con acido cloridrico diluito (4.9), e poi trasferire la soluzione, con l'aiuto di 100 ml di acqua distillata, in un imbuto separatore. Aggiungere quindi 25 ml di etanolo (4.3), 25 ml di soluzione di cloridrato di p-toluidina (4.6) e da 25 a 30 ml di tetracloruro di carbonio (4.4) e agitare vigorosamente la miscela.

6.2. Dopo la separazione delle fasi, rimuovere lo strato inferiore (fase organica), ripetere l'estrazione con i reattivi utilizzati in 6.1 e allontanare di nuovo la fase organica.

6.3. Trasferire la soluzione acquosa in un bicchiere di vetro da 600 ml ed eliminare il tetracloruro di carbonio residuo portando la soluzione al punto di ebollizione.

6.4. Aggiungere 50 ml di soluzione di acetato di ammonio (4.1), portare la soluzione al punto di ebollizione (5.9) e precipitare la soluzione bollente aggiungendo 10 ml di soluzione calda di cloruro di calcio (4.2) agitando.

6.5. Verificare che la precipitazione sia completa aggiungendo alcune gocce di soluzione di cloruro di calcio (4.2), lasciare raffreddare alla temperatura ambiente, aggiungere agitando (5.10) 200 ml di etanolo (4.3) e lasciare riposare per 30 minuti.

6.6. Filtrare il liquido in un crogiolo da filtrazione in vetro (5.3), versare anche il precipitato nel crogiolo da filtrazione aiutandosi con un poco di acqua calda (50—60° C) e lavare il precipitato con acqua fredda.

6.7. Lavare il precipitato ancora 5 volte con un po' di etanolo (4.3) e di etere dietilico (4.5), poi sciogliere il precipitato in 50 ml di acido solforico caldo (4.8) aspirando con il crogiolo di filtrazione.

6.8. Versare quantitativamente la soluzione in una beuta (5.12) e titolare con permanganato di potassio (4.7) fino a colorazione rosa pallido.

7. *Calcolo*

Il contenuto del campione espresso come acido ossalico m% di peso è calcolato mediante la formula:

$$\text{\% di acido ossalico} = \frac{A \times 4{,}50179 \times 100}{E \times 1000}$$

in cui:
A = consumo di permanganato di potassio 0,1 N (vedi 6.8),
E = quantità in grammi del campione utilizzata (vedi 6.1),
4,50179 = coefficiente di conversione per l'acido ossalico.

8. *Ripetibilità* (1)

Per un contenuto in acido ossalico dell'ordine del 5 % (m/m) la differenza tra i risultati di due dosaggi paralleli effettuati su un medesimo campione non deve superare lo 0,15%.

9. *Identificazione*

9.1. **Principio**

L'acido ossalico e/o gli ossalati vengono precipitati come ossalato di calcio e sciolti nell'acido solforico. Si aggiunge poi un po' di soluzione di permanganato di potassio; quest'ultimo si decolora con formazione di anidride carbonica. Facendo passare questa anidride carbonica in una soluzione di idrossido di bario si provoca un intorbidamento dovuto alla formazione di un precipitato bianco di carbonato di bario.

9.2. **Procedimento**

9.2.1. Sottoporre una parte del campione da esaminare al trattamento indicato ai punti da 6.1 a 6.3, al fine di eliminare i detergenti eventualmente presenti.

9.2.2. A 10 ml circa della soluzione ottenuta in 9.2.1, aggiungere una punta di spatola di acetato di sodio (4.10) e acidificare la soluzione con qualche goccia di acido acetico glaciale (4.11).

9.2.3. Aggiungere la soluzione di cloruro di calcio al 10% (4.2) e filtrare.

Sciogliere il precipitato di ossalato di calcio in 2 ml di acido solforico (1:1) (4.12).

9.2.4. Versare la soluzione in una provetta e aggiungere goccia a goccia 0,5 ml circa di soluzione di permanganato di potassio 0,1 N (4.7).

In presenza di ossalato, la soluzione si decolora dapprima lentamente e in seguito rapidamente.

9.2.5. Subito dopo l'aggiunta del permanganato di potassio, applicare alla provetta un tappo forato provvisto di tubo di sviluppo di dimensioni appropriate, riscaldare il contenuto e raccogliere l'anidride carbonica formatasi in una soluzione satura di idrossido di bario (4.13). Il formarsi, dopo 3—5 minuti, di una nube lattea di carbonato di bario indica la presenza di acido ossalico.

(1) Secondo la norma ISO/DIS 5725.

III. DOSAGGIO DEL CLOROFORMIO NEI DENTIFRICI (1)

1. SCOPO E CAMPO D'APPLICAZIONE

Questo metodo descrive il dosaggio per gascromatografia del cloroformio nei dentifrici. Il metodo è idoneo per determinare un tenore di cloroformio fino al 5 %.

2. DEFINIZIONE

Il cloroformio determinato secondo questo metodo è espresso come percentuale in peso sul prodotto.

3. PRINCIPIO

Si mette il dentifricio in sospensione in una miscela di dimetilformamide e metanolo, aggiungendo una certa quantità di acetonitrile come standard interno. Dopo centrifugazione si esamina una parte della fase liquida per gascromatografia e si calcola il tenore di cloroformio.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Porapak Q, o cromosorb 101 o prodotto equivalente a granulometria (80—100 mesh)

4.2. Acetonitrile

4.3. Cloroformio

4.4 Dimetilformamide

4.5. Metanolo

4.6. Soluzione di standard interno:
Pipettare 5 ml di dimetilformamide (4.4) in un matraccino tarato da 50 ml e aggiungere circa 300 mg (M) esattamente pesati di acetonitrile. Portare a volume con dimetilformamide e mescolare.

4.7. Soluzione per determinare il fattore relativo di risposta. Pipettare 5,0 ml di soluzione di standard interno (4.6) in un matraccino tarato da 10 ml e aggiungere circa 300 mg (M_1) di cloroformio (4.3) esattamente pesati. Portare a volume con dimetilformamide e mescolare.

5. APPARECCHIATURE

5.1. Bilancia analitica

5.2. Gascromatografo munito di rivelatore a ionizzazione di fiamma

5.3. Siringa da iniezione da 5 o da 10 microlitri, con graduazione da 0,1 microlitri.

5.4. Pipette tarate da 1,4 e 5 ml

5.5. Matraccini tarati da 10 e 50 ml

5.6. Provette di circa 20 ml con tappo a vite. L'interno del tappo a vite è munito di una placca in materia plastica di cui una faccia è ricoperta di teflon.

5.7. Centrifuga con regolazione continua della velocità di rotazione.

6. PROCEDIMENTO

6.1. **Condizioni richieste**

6.1.1. Tipo di colonna: vetro
Lunghezza: 150 cm
Diametro interno: 4 mm
Diametro esterno: 6 mm

6.1.2. Riempimento:
Porapak Q o cromosorb 101 o prodotto equivalente a 80 o 100 mesh (4.1)

6.1.3 Rivelatore a ionizzazione di fiamma
Regolare la sua sensibilità in modo che con la iniezione di 3 microlitri della soluzione 4.7 l'altezza del picco dell'acetonitrile copra circa i 3/4 della totalità della scala.

6.1.4. Gas vettore: azoto, flusso 65 ml/minuto
Gas ausiliari: idrogeno
Regolare il flusso del gas al rivelatore a ionizzazione di fiamma in modo che il flusso dell'aria o dell'ossigeno sia da 5 a 10 volte superiore a quello dell'idrogeno.

(1) Il cloroformio non può entrare nella composizione dei prodotti cosmetici: v voce 367 dell'allegato II alla legge 11 ottobre 1986, n. 713.

6.1.5. *Temperature:*
iniettore: 210° C
rivelatore: 210° C
colonna: 175° C

6.1.6. *Registratore:*
Scorrimento della carta: circa 100 cm/ora.

6.2. **Trattamento del campione**

Prelevare il campione per l'analisi da un tubo non ancora aperto.

Eliminare un terzo del contenuto, richiudere il tubo con la vite, mescolare accuratamente e prendere quindi il campione per l'analisi.

6.3. **Dosaggio**

6.3.1. Pesare con una precisione di 10 mg, 6 o 7 g (M) del dentifricio trattato secondo il punto 6.2 in una provetta con tappo a vite (5.6) e aggiungere alcune sferette di vetro.

6.3.2. Pipettare 5,0 ml della soluzione di standard interno (4.6), 4 ml di dimetilformamide (4.4) e 1 ml di metanolo (4.5) nella provetta, chiudere con il tappo a vite e omogenizzare.

6.3.3. Agitare per una mezz'ora con un vibratore meccanico e centrifugare la provetta chiusa per 15 minuti ad una velocità tale da ottenere una netta separazione delle fasi.

Osservazione: Capita talvolta che la fase liquida sia ancora torbida dopo la centrifugazione. Si può migliorarla, aggiungendo da 1 a 2 g di cloruro di sodio nella fase liquida e centrifugando di nuovo.

6.3.4. Iniettare 3 ml di questa soluzione (6.3.3) nelle condizioni descritte al punto 6.1. Ripetere questa operazione.

Nelle condizioni succitate, si possono indicare i seguenti tempi di ritenzione come valori di orientamento:

Metanolo	circa 1 minuto
Acetonitrile	circa 2,5 minuti
Cloroformio	circa 6 minuti
Dimetilformamide	più di 15 minuti

6.3.5. *Determinazione del fattore di risposta relativo*

Iniettare 3 ml della soluzione 4.7 per determinare questo fattore.

Ripetere questa operazione e determinare il fattore di risposta relativo quotidianamente.

7. CALCOLO

7.1. **Calcolo della risposta relativa**

7.1.1. Misurare l'altezza e la larghezza a metà altezza dei picchi dell'acetonitrile e del cloroformio e calcolare la superficie dei due picchi con la formula:
altezza per larghezza a metà altezza.

7.1.2. Determinare la superficie dei picchi dell'acetonitrile e del cloroformio nei cromatogrammi ottenuti in 6.3.5 e calcolare la risposta relativa f_s per mezzo della formula:

$$f_s = \frac{As \cdot Mi}{Ms \cdot Ai} = \frac{As \cdot {}^{1}/_{10}\ M}{Ai \cdot M_1}$$

in cui:

f_s = fattore di risposta relativo per il cloroformio

As = superficie del picco del cloroformio (6.3.5)

Ai = superficie del picco dell'acetonitrile (6.3.5)

Ms = quantità di cloroformio in mg per 10 ml della soluzione utilizzata in 6.3.6 (= 1/10M)

Calcolare la media dei valori trovati.

7.2. **Calcolo del tenore in cloroformio**

7.2.1. Calcolare nel modo descritto in 7.1.1 la superficie dei picchi del cloroformio e dell'acetonitrile dei cromatogrammi ottenuti in 6.3.4.

7.2.2. Calcolare il tenore in cloroformio del dentifricio per mezzo della formula:

$$\% X = \frac{As \cdot Mi}{f_s \cdot M_{sx} \cdot Ai} \cdot 100\% = \frac{As \cdot M}{f_s \cdot Ai \cdot M_o \cdot 100}$$

in cui:

% X = tenore in cloroformio come percentuale in peso sul dentifricio

As = superficie del picco del cloroformio (6.3.4)

Ai = superficie del picco dell'acetonitrile (6.3.4)

M_{sx} = peso in mg del campione esaminato in 6.3.1 (= 1 000 M)

Mi = quantità di acetonitrile in mg per ml della soluzione ottenuta in 6.3.2 (1/10 M)

Calcolare la media dei contenuti trovati ed esprimere il risultato con 1 decimale.

8. RIPETIBILITA [1]

Per un tenore in cloroformio dell'ordine del 3 % la differenza tra i risultati di due dosaggi paralleli effettuati su un medesimo campione non deve superare lo 0,3 %.

IV. DOSAGGIO DELLO ZINCO

1. SCOPO E CAMPO D'APPLICAZIONE

Questo metodo descrive il dosaggio dello zinco presente nei prodotti cosmetici sotto forma di cloruro, solfato, fenosolfonato o sotto forma di miscele di più sali in questione.

2. DEFINIZIONE

La quantità di zinco nel campione, determinata per gravimetria del 2-metil-8 ossichinolato di zinco espressa come percentuale in percento di massa di zinco.

3. PRINCIPIO

Lo zinco in soluzione è precipitato in ambiente acido sotto forma di 2-metil-8-ossichinolato di zinco. Dopo filtrazioni ed essiccazione, il precipitato viene pesato.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Ammoniaca concentrata al 25 % (m/m); $d_4^{20} = 0,91$

4.2. Acido acetico glaciale

4.3. Acetato di ammonio

4.4. 2-metil-8-ossichinolina

4.5. Soluzione d'ammoniaca al 6 % (m/v). Versare 240 g di ammoniaca concentrata (4.1) in un matraccio tarato da 1 000 ml, portare a volume con acqua distillata e mescolare.

4.6. Soluzione di acetato d'ammonio 0,2M. Sciogliere 15,4 g di acetato d'ammonio (4,3) con acqua distillata in un matraccio tarato da 1000 ml. Portare a volume con acqua distillata e mescolare.

4.7. Soluzione di 2-metil-8-ossichinolina. Sciogliere 5 g di 2-metil-8-ossichinolina in 12 ml di acido acetico glaciale in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acqua distillata e mescolare.

5. APPARECCHIATURE

5.1. Matracci tarati da 100 a 1 000 ml

5.2. Bicchieri di vetro da 400 ml

5.3. Cilindri graduati da 50 a 150 ml

5.4. Pipette tarate da 10 ml

---

[1] Secondo la norma ISO/DIS 5725.

5.5. Crogioli filtranti in vetro G-4
5.6. Beute d'aspirazione sotto vuoto da 500 ml
5.7. Pompa a caduta d'acqua
5.8. Termometro graduato da 0 a 100° C
5.9. Essiccatore, contenente un opportuno essiccatore con indicatore igrometrico, per esempio gel di silice o equivalente.
5.10 Stufa regolata alla temperatura di 150 ± 2° C
5.11 pH-metro
5.12. Piastra riscaldante
5.13. Filtro di carta n. 42, Whatman o equivalente.

6. PROCEDIMENTO

6.1. Pesare da 5 a 10 g (M) dei campioni da esaminare, che devono contenere da 50 a 100 ml circa di zinco, versarli in un bicchiere da 400 ml, aggiungere 50 ml di acqua distillata e mescolare.

6.1.1. Filtrare in depressione, se necessario, e separare il filtrato.

6.1.2. Ripetere nuovamente l'estrazione con 50 ml di acqua distillata. Filtrare e mescolare i filtrati.

6.2. Aggiungere 2 ml di soluzione di 2-metil-8-ossichinolina (4.7) per ogni decina di mg di zinco contenuto nella soluzione (6.1.2.) e mescolare.

6.3. Diluire con 150 ml di acqua distillata, portare (5.12) la temperatura della soluzione a 60° C e aggiungere agitando 45 ml della soluzione di acetato di ammonio 0,2 M (4.6).

6.4. Agitare e portare il pH della soluzione a 5,7—5,9 con la soluzione di ammoniaca (4.5); controllare il pH della soluzione per mezzo di un pH-metro.

6.5. Lasciare riposare 30 minuti. Servendosi di una pompa a caduta d'acqua, filtrare la soluzione attraverso un crogiolo filtrante (G—4), preventivamente essiccato (150° C) e tarato (M_0).Lavare il precipitato raccolto nel crogiolo con un totale di 150 ml di acqua distillata riscaldata a 95° C.

6.6. Introdurre il crogiolo in una stufa regolata alla temperatura di 150° C e essiccare per un'ora.

6.7. Togliere il crogiolo dalla stufa, collocarlo in un essiccatore (5.9) e determinare il peso (M_1) dopo che è tornato alla temperatura ambiente.

7. CALCOLO

Calcolare il tenore in zinco del campione come percentuale in massa (% m/m) mediante la seguente formula:

$$\% \text{ zinco} = \frac{(M_1 - M_0) \times 17{,}12}{M}$$

in cui:

M = massa in grammi della frazione di campione esaminata in 6.1
M_0 = massa in grammi del crogiolo filtrante vuoto e secco (6.5)
M_1 = massa in grammi del crogiolo filtrante contenente il precipitato (6.7)

8. RIPETIBILITA([1])

Per un tenore in zinco dell'ordine dell'1 % (m/m) la differenza tra i risultati di due determinazioni parallele effettuate sullo stesso campione non deve superare lo 0,1 %.

V. DOSAGGIO E IDENTIFICAZIONE DELL'ACIDO FENOLSOLFONICO

1. SCOPO E CAMPO D'APPLICAZIONE

Questo metodo descrive l'identificazione e il dosaggio dell'acido fenolsolfonico nei prodotti cosmetici quali gli aerosol e le lozioni per la cura del viso.

2. DEFINIZIONE

Il contenuto in acido fenolsolfonico del campione determinato con questo metodo è espresso come percentuale in massa di fenolsolfonato di zinco anidro.

([1]) Secondo la norma ISO/DIS 5725.

3. PRINCIPIO

Il campione destinato all'esame è concentrato a pressione ridotta, sciolto nell'acqua e purificato per estrazione con cloroformio.

Il dosaggio dell'acido fenolsolfonico effettuato per bromo-iodometria su una aliquota della soluzione acquosa filtrata.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Acido cloridrico concentrato, 36 % ($d_4^{20} = 1,18$)
4.2. Cloroformio
4.3. n-Butanolo
4.4. Acido acetico glaciale
4.5. Ioduro di potassio
4.6. Bromuro di potassio
4.7. Carbonato di sodio
4.8. Acido solfanilico
4.9. Nitrito di sodio
4.10. Soluzione di bromato di potassio, O,1N
4.11. Soluzione di tiosolfato di sodio, O,1N
4.12. Soluzione acquosa di amido all'1 % (m/v)
4.13. Soluzione acquosa di carbonato di sodio al 2 % (m/v)
4.14. Soluzione acquosa di nitrito di sodio al 4,5 % (m/v)
4.15. Soluzione cloroformica di ditizone allo 0,05 % (m/v)

4.16. Eluente n-butanolo-acido acetico glaciale-acqua (4 : 1 : 5, v); dopo agitazione in imbuto separatore, eliminare la fase inferiore.

4.17. Reattivo di Pauly
Sciogliere a caldo 4,5 g di acido solfanilico (4.8) in 45 ml di acido cloridrico concentrato (4.1) e diluire con acqua fino a 500 ml. Raffreddare 10 ml di soluzione in una vasca d'acqua ghiacciata e aggiungere, agitando, 10 ml di soluzione fredda di nitrito di sodio (4.14). Lasciare riposare la soluzione per 15 minuti a 0° C — a questa temperatura la soluzione è stabile da 1 a 3 giorni — e aggiungere, immediatamente prima della spruzzatura (7.5), 20 ml di soluzione di carbonato di sodio (4.13).

4.18. Piastre di cellulosa già pronte per la cromatografia su strato sottile, formato 20 × 20 cm, spessore dello strato assorbente 0,25 mm.

5. APPARECCHIATURE

5.1. Palloni a fondo tondo da 100 ml, provvisti di tappo smerigliato
5.2. Imbuto separatore da 100 ml
5.3. Beute a tappo smerigliato da 250 ml
5.4. Buretta da 25 ml
5.5. Pipette tarate da 1, 2 e 10 ml
5.6. Pipetta graduata da 5 ml
5.7. Siringa da iniezione da 10 ml con graduazione da 0,1 ml
5.8. Termometro graduato da 0 a 100° C
5.9. Bagnomaria dotato di un elemento riscaldante
5.10 Forno ben ventilato e regolato alla temperatura di 80° C
5.11. Normali accessori per la cromatografia su strato sottile

6. TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

Per l'identificazione e il dosaggio dell'acido fenolsolfonico, negli aerosol si utilizza il residuo ottenuto liberando il contenuto dell'aerosol dai solventi e propellenti che sono volatili ad una pressione normale.

7. IDENTIFICAZIONE

7.1. Su sei punti della linea di partenza situata ad 1 cm dal basso della piastra di cellulosa (4.18), depositare successivamente per mezzo di una siringa da iniezione (5.7) 5 microlitri del residuo (6) o del campione.

7.2. Porre la piastra in una vasca contenente già l'eluente (4.16) e attendere che il fronte del solvente abbia raggiunto la linea situata a 15 cm dalla linea di partenza.

7.3. Dopo averla tolta dalla vasca, essiccare la piastra a 80° C fino ad evaporazione totale dell'acido acetico. Spruzzare la piastra con la soluzione di carbonato di sodio (4.13) e lasciar essiccare all'aria.

7.4. Coprire metà piastra con una piastra di vetro e spruzzare la soluzione di ditizone allo 0,05 % (4.15) sulla metà non coperta.

In presenza di ioni di zinco appaiono sul cromatogramma macchie rosso-violette.

7.5. Coprire poi con una piastra di vetro la metà della piastra sulla quale è stata spruzzata la soluzione di ditizone, e spruzzare il reattivo di Pauly (4.17) sull'altra metà. In presenza di acido fenolsolfonico appaiono sul cromatogramma una macchia bruno-giallastra (acido p-fenolsolfonico) con un Rf circa 0,26 e una macchia gialla (acido m-fenolsolfonico) con un Rf circa 0,45.

8. DOSAGGIO

8.1. Pesare 10 g di campione o di residuo (6) in un pallone a fondo tondo da 100 ml e concentrarli, per mezzo di un evaporatore rotante sotto vuoto, fin quasi a secco in un bagnomaria a 40° C.

8.2. Pipettare 10,0 ml di acqua (V_1) nel pallone e sciogliere a caldo il residuo di evaporazione (8.1.)

8.3. Travasare quantitativamente la soluzione in un imbuto separatore (5.2) ed estrarre la soluzione acquosa a due riprese con 20 ml di cloroformio (4.2). Dopo ogni estrazione, scartare la fase cloroformica.

8.4. Filtrare la soluzione acquosa su un filtro a pieghe; in funzione del contenuto previsto di acido fenolsolfonico, pipettare 1.0 o 2,0 ml (V_2) del filtrato in una beuta da 250 ml (5.3) e diluire a 75 ml con acqua.

8.5. Aggiungere 2,5 ml di acido cloridrico al 36 % (4.1) e 2,5 g di bromuro di potassio (4.6), mescolare e riscaldare la soluzione a 50° C a bagnomaria.

8.6. Aggiungere mediante una buretta la quantità di soluzione di bromato di potassio 0,1N (4.10) necessaria per far virare al giallo la soluzione, la cui temperatura è mantenuta a 50 ° C.

8.7. Aggiungere 3,0 ml di soluzione di bromato di potassio (4.10). Tappare la beuta e lasciare riposare 10 minuti a bagnomaria a 50° C. Tuttavia se dopo 10 minuti la colorazione è scomparsa, aggiungere ancora 2,0 ml di soluzione di bromato di potassio (4.10) e rimettere la beuta, tappata, per altri 10 minuti nel bagnomaria a 50° C. Annotare la quantità totale di soluzione di bromato di potassio aggiunta (a).

8.8. Lasciare raffreddare la soluzione alla temperatura ambiente, aggiungere 2 g di ioduro di potassio (4.5) e mescolare.

8.9. Con una soluzione di tiosolfato di sodio 0,1N (4.11), titolare lo iodio libero, aggiungere qualche goccia della soluzione di amido (4.12) come indicatore. Annotare la quantità di tiosolfato di sodio utilizzata (b).

9. CALCOLO

Calcolare la percentuale in massa (% m/m) del fenolsolfonato di zinco del campione o del residuo (6) mediante la formula:

$$\text{\% fenolsolfonato di zinco} = \frac{(a-b) \times V_1 \times 0{,}00514 \times 100}{m \times V_2}$$

in cui

a = quantità totale in ml di soluzione di bromato di potassio 0,1N aggiunta (8.7)

b = quantità di soluzione in ml di tiosolfato di sodio 0,1N utilizzata per la titolazione (8.9)

m = quantità di prodotto o di residuo esaminati (8.1) (in milligrammi)

V_1 = volume in ml della soluzione ottenuta in 8.2

V_2 = volume in ml del residuo di evaporazione sciolto utilizzato per l'esame (8.4)

Osservazione

Nel caso degli aerosol, il risultato delle misurazioni in percentuale (m/m) del residuo (6) deve essere convertito in percentuale del prodotto di origine.

10. RIPETIBILITA [1]

Per un contenuto del 5% circa di solfofenato di zinco la differenza tra i risultati di due determinazioni parallele effettuate su un medesimo campione non deve superare lo 0,5 %.

11. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Ai sensi delle disposizioni della direttiva 76/768/CEE concernente i prodotti cosmetici, le lozioni per la cura del viso e i deodoranti possono contenere al massimo il 6 % (m/m) di fenolsolfonato di zinco. A causa di questa formulazione, è necessario determinare non soltanto il tenore iň acido fenolsolfonico, ma anche il tenore in zinco. Moltiplicando il tenore in fenolsolfonato di zinco calcolato (in 9) con il coefficiente 0,1588 si ottiene il tenore *minimo* in zinco del prodotto in % (m/m), quale risulta dal tenore misurato in acido fenolsolfonico. Il tenore effettivo in zinco misurato con procedimenti gravimetrıcı (vedi le disposizioni specifiche) può tuttavia essere più elevato, dato che i prodotti cosmetici possono contenere anche del cloruro e del solfato di zinco.

---

[1] Secondo la norma ISO/DIS 5725.

VI. IDENTIFICAZIONE DI ALCUNI OSSIDANTI E DOSAGGIO DEL PEROSSIDO DI IDROGENO NEI PRODOTTI PER LA CURA DEI CAPELLI

SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

La determinazione iodometrica del perossido di idrogeno nei prodotti cosmetici è possibile in assenza di altri ossidanti, che reagiscono con gli ioduri formando iodio. Pertanto, prima di procedere alla determinazione iodometrica del perossido di idrogeno, è necessario rilevare e identificare gli altri ossidanti eventualmente presenti. Questa identificazione si suddivide in due fasi : la prima fase riguarda i persolfati, i bromati e il perossido di idrogeno, la seconda il perossido di bario.

A. IDENTIFICAZIONE DEI PERSOLFATI, DEI BROMATI E DEL PEROSSIDO DI IDROGENO

1. PRINCIPIO

Il persolfato di sodio, di potassio e di ammonio, il bromato di potassio e di sodio, nonché il perossido di idrogeno — derivato o meno dal perossido di bario — vengono identificati per cromatografia discendente su carta con l'impiego di due solventi di sviluppo.

2. REATTIVI

Tutti i reagenti devono essere di purezza analitica.

2.1. Soluzioni acquose di riferimento allo 0,5 % (m/v) dei seguenti composti :

2.1.1. Persolfato di sodio

2.1.2. Persolfato di potassio

2.1.3. Persolfato di ammonio

2.1.4. Bromato di potassio

2.1.5. Bromato di sodio

2.1.6. Perossido di idrogeno

2.2. Eluente A : etanolo 80 % (v/v)

2.3. Eluente B : benzene — metanolo — alcole isoamilico — acqua (34-38-18-10 v/v)

2.4. Reattivo A : soluzione acquosa di ioduro di potassio al 10 % (m/v)

2.5. Reattivo B : salda d'amido all'1 % (m/v)

2.6. Reattivo C : acido cloridrico al 10 % (m/m)

2.7. Acido cloridrico 4 N.

3. APPARECCHIATURE E STRUMENTI

3.1. Carta per cromatografia (Whatman n. 3 e n. 4 o equivalente)

3.2. Micropipetta da 1 µl

3.3. Matracci tarati da 100 ml

3.4. Filtri a pieghe

3.5. Normali attrezzature per l'esecuzione della cromatografia discendente su carta.

4. TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

4.1. Prodotti solubili in acqua

Per ciascun campione preparare due soluzioni sciogliendo rispettivamente 1 e 5 g del prodotto in 100 ml di acqua. Per effettuare la cromatografia su carta descritta al punto 5, utilizzare 1 µl di ciascuna di queste due soluzioni.

4.2. Prodotti poco solubili in acqua

4.2.1. Pesare 1 e 5 g del campione, sospenderli in 50 ml di acqua, aggiungere acqua fino a 100 ml e mescolare. Filtrare le due sospensioni per filtro a pieghe (3.4) ed utilizzare 1 µl di ciascuno dei due filtrati per effettuare la cromatografia su carta descritta al punto 5.

4.2.2. Preparare per ciascun campione due altre sospensioni di 1 e 5 g in 50 ml di acqua, acidificare con acido cloridrico diluito (2.7), portare a volume di 100 ml con acqua e mescolare. Filtrare le sospensioni per filtro a pieghe (3.4) ed utilizzare 1 µl di ciascuno dei due filtrati per effettuare la cromatografia su carta descritta al punto 5.

4.3. Creme

Omogeneizzare rispettivamente 5 e 20 g di ciascun prodotto in 100 ml di acqua ed utilizzare le sospensioni per effettuare la cromatografia su carta descritta al punto 5.

5. PROCEDIMENTO

5.1. Versare in due recipienti per cromatografia discendente su carta una determinata quantità dei solventi di sviluppo A (2.2) e B (2.3). Saturare i recipienti con i vapori dei solventi almeno per 24 ore.

5.2. Depositare su ciascun punto di partenza di una striscia di carta per cromatografia (Whatman n. 3 o equivalente) di 40 × 20 cm (3.1) o di altro formato idoneo 1 µl di una delle soluzioni di campione e di riferimento preparate secondo i punti 4 e 2.1, e lasciar evaporare il solvente all'aria.

5.3. Mettere la striscia di carta (5.2) nella vaschetta riempita con solvente A (5.1) e cromatografare fino a che il fronte di sviluppo abbia percorso 35 cm (circa 15 ore).

5.4. Ripetere le operazioni descritte ai punti 5.2 e 5.3 con carta per cromatografia (Whatman n. 4 o equivalente) (3.1) e con solvente B. Cromatografare fino a che il fronte di sviluppo abbia percorso 35 cm (circa 5 ore).

5.5. Dopo lo sviluppo togliere le strisce di carta dai recipienti e lasciarle essiccare all'aria.

5.6. Rilevare le macchie spruzzando

5.6.1. il reattivo A (2.4) e subito dopo il reattivo B (2.5). Sul cromatogramma appaiono dapprima le macchie dei persolfati e quindi le macchie di perossido di idrogeno.
Segnare queste macchie con una matita,

5.6.2. il reattivo C (2.6) sui cromatogrammi ottenuti secondo il punto 5.6.1. La presenza di bromati è indicata da macchie grigio-blu sui cromatogrammi.

5.7. Nelle condizioni sopra indicate per i solventi A (2.2) e B (2.3), i valori Rf delle soluzioni di riferimento (2.1) sono i seguenti

	Solvente A (2.2)	*Solvente B (2.3)*
Persolfato di sodio	0,40	0,10
Persolfato di potassio	0,40	0,02 + 0,05
Persolfato di ammonio	0,50	0,10 + 0,20
Bromato di sodio	0,40	0,20
Bromato di potassio	0,40	0,10 + 0,20
Perossido di idrogeno	0,80	0,80

B. IDENTIFICAZIONE DEL PEROSSIDO DI BARIO

1. PRINCIPIO

La presenza di perossido di bario è messa in evidenza

— come perossido di idrogeno mediante acidificazione del campione (A. 4.2),

— per identificazione degli ioni bario.

In assenza di persolfati (A), si aggiunge acido solforico diluito ad una parte della soluzione di campione acida (B. 4.1), in modo da formare un precipitato bianco di solfato di bario. La presenza di ioni bario nella soluzione di campione (B. 4.1) è confermata mediante cromatografia su carta eseguita nel modo indicato al precedente punto 5.

In caso di presenza simultanea di perossido di bario e di persolfati (B. 4.2) : dopo fusione alcalina e soluzione in acido cloridrico si rivela la presenza di ioni bario mediante cromatografia su carta e/o mediante precipitazione allo stato di solfati.

2. REATTIVI

2.1. Metanolo

2.2. Acido cloridrico concentrato al 36 % (m/m)

2.3. Acido cloridrico 6 N

2.4. Acido solforico 4 N

2.5. Rodizonato disodico

2.6. Cloruro di bario ($BaCl_2 2H_2O$)

2.7. Carbonato di sodio anidro

2.8. Soluzione acquosa di cloruro di bario all'1 % (m/v)

2.9. Eluente metanolo — acido cloridrico concentrato al 36 % — acqua (80 – 10 – 10 v/v)

2.10. Rivelatore, soluzione acquosa di rodizonato disodico allo 0,1 % (m/v) ; preparare la soluzione subito prima dell'uso.

3. APPARECCHIATURE E STRUMENTI

3.1. Micropipetta da 5 µl

3.2. Crogioli di platino

3.3. Palloni tarati da 100 ml

3.4. Carta per cromatografia (Schleicher e Schüll 2043 b o equivalente). Porre la carta per una notte nella vaschetta per cromatografia discendente su carta (A. 3.5) contenente il solvente B. 2.9, e successivamente asciugarle

3.5. Filtri a pieghe

3.6. Normali apparecchiature per la cromatografia ascendente su carta.

4. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

4.1. **Prodotti non contenenti persolfati**

4.1.1. Omogeneizzare o disciogliere 2 g del prodotto in 50 ml d'acqua e portare il pH della soluzione al massimo a 1 per mezzo di acido cloridrico (B. 2.3).

4.1.2. Versare la soluzione o la sospensione in un pallone tarato da 100 ml, portare a volume con acqua e mescolare. Utilizzare questa soluzione per effettuare la cromatografia su carta descritta al punto 5 e per identificare il bario mediante precipitazione come solfato.

4.2. **Prodotti contenenti persolfati**

4.2.1. Omogeneizzare o disciogliere 2 g del prodotto in 100 ml di acqua e filtrare.

4.2.2. Aggiungere al residuo essiccato da 7 a 10 volte il suo peso di carbonato di sodio (B. 2.7), mescolare e riscaldare la miscela in un crogiolo di platino (B. 3.2) fino a fusione, per una mezz'ora.

4.2.3. Raffreddare alla temperatura ambiente, sospendere il prodotto della fusione in 50 ml di acqua e filtrare (B. 3.5).

4.2.4. Sciogliere nell'acido cloridrico 6 N (B. 2.3) e portare con acqua a 100 ml. Utilizzare questa soluzione per effettuare la cromatografia su carta descritta al punto 5 e per identificare il bario mediante precipitazione come solfato.

5. PROCEDIMENTO

5.1. Mettere in una vaschetta per cromatografia ascendente su carta una certa quantità di solvente (B. 2.9) e saturare la vaschetta per almeno 15 ore.

5.2. Su un foglio di carta per cromatografia, pretrattato come indicato al punto B. 3.4, depositare in tre punti alla partenza 5 µl rispettivamente delle soluzioni di cui ai punti B. 4.1.2 e B. 4.2.4 e della soluzione di riferimento (B. 2.8).

5.3. Fare asciugare le deposizioni all'aria, e cromatografare verticalmente finché il fronte di sviluppo abbia percorso 30 cm.

5.4. Togliere la carta dalla vaschetta e farla essiccare all'aria.

5.5. Rivelare le macchie sul cromatogramma, spruzzando la carta con il reattivo B. 2.10.

In presenza di bario appaiono sul cromatogramma macchie rosse con un Rf di 0,10 circa.

C. DOSAGGIO DEL PEROSSIDO DI IDROGENO

1. PRINCIPIO

La determinazione iodometrica del perossido di idrogeno è basata sulla seguente reazione :

$$H_2O_2 + 2H^+ + 2I^- \longrightarrow I_2 + 2H_2O$$

Tale reazione si svolge lentamente, ma è possibile accelerarla aggiungendo molibdato di ammonio. Lo iodio formatosi viene determinato per titolazione con tiosolfato di sodio e permette di determinare il tenore di perossido di idrogeno.

2. DEFINIZIONE

Il tenore di perossido di idrogeno del campione, determinato nel modo descritto in appresso, viene espresso in percentuale di massa del prodotto.

3. REATTIVI

Tutti i reagenti devono essere di purezza analitica.

3.1. Acido solforico 2 N

3.2. Ioduro di potassio

3.3. Molibdato di ammonio

3.4. Soluzione di tiosolfato di sodio 0,1 N

3.5. Soluzione di ioduro di potassio al 10 % (m/v). Preparare la soluzione subito prima dell'uso

3.6. Soluzione di molibdato di ammonio al 20 % (m/v)

3.7. Salda di amido all'1 % (m/v)

4. APPARECCHIATURE E STRUMENTI

4.1. Becher di vetro da 100 ml

4.2. Buretta da 50 ml

4.3. Palloni tarati da 250 ml

4.4. Cilindri graduati da 25 e 100 ml

4.5. Pipette tarate da 10 ml

4.6. Beute da 250 ml

5. PROCEDIMENTO

5.1. In un becher da 100 ml pesare una quantità (m) del prodotto, equivalente a circa 0,6 g di perossido di idrogeno. Travasare quantitativamente in un pallone tarato da 250 ml con l'aiuto di una piccola quantità di acqua, portare a volume con acqua e mescolare.

5.2. Pipettare 10 ml della soluzione di campione (5.1) in una beuta da 250 ml (4.6) e aggiungere successivamente 100 ml di acido solforico 2N (3.1), 20 ml di soluzione di ioduro di potassio (3.5) e tre gocce di soluzione di molibdato di ammonio (3.6).

5.3. Titolare immediatamente lo iodio formatosi con tiosolfato di sodio 0,1 N (3.4) e, subito prima di raggiungere il punto di equivalenza, aggiungere alcuni ml di salda di amido come indicatore. Rilevare il consumo di tiosolfato di sodio 0,1 N in ml (V).

5.4. Secondo il procedimento indicato ai punti 5.2 e 5.3, effettuare una prova in bianco sostituendo i 10 ml di soluzione di campione con 10 ml di acqua. Rilevare il consumo in ml di tiosolfato di sodio 0,1 N nella prova in bianco (Vo).

6. CALCOLO

Calcolare il tenore del prodotto in perossido di idrogeno in percentuale di massa (% m/m) mediante la seguente formula

$$\text{\% di perossido di idrogeno} = \frac{(V - Vo) \times 1{,}7008 \times 250 \times 100}{m \times 10 \times 1\,000} \text{ uguale}$$

$$\frac{(V - Vo) \times 4{,}252}{m}$$

in cui

m = la quantità in grammi del prodotto esaminato (5.1),

Vo = il consumo in ml di soluzione di tiosolfato 0,1 N nella prova in bianco (5.4),

V = il consumo in ml di soluzione di tiosolfato 0,1 N nella titolazione della soluzione di campione (5.3).

7. RIPETIBILITÀ [1]

Per un tenore in perossido di idrogeno di circa il 6 % la differenza tra i risultati di due dosaggi paralleli effettuati su un medesimo campione non deve superare lo 0,2 %.

---

[1] Secondo la norma ISO 5725.

VII. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO SEMIQUANTITATIVO DI ALCUNI COLORANTI DI OSSIDAZIONE NELLE TINTURE PER CAPELLI

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Questo metodo permette l'identificazione e il dosaggio semiquantitativo nelle tinture per capelli in forma di crema o di liquido delle seguenti sostanze

Sostanze	Simbolo
Diaminobenzeni	
1-2 diaminobenzene (o. fenilendiamina) (1)	(OPD)
1-3 diaminobenzene (m. fenilendiamina)	(MPD)
1-4 diaminobenzene (p. fenilendiamina)	(PPD)
Diaminotolueni	
3-4 diaminotoluene (o. toluilendiamina)	(OTD)
2-4 diaminotoluene (m. toluilendiamina) (1)	(MTD)
2-5 diaminotoluene (p. toluilendiamina)	(PTD)
Diaminofenoli	
2-4 diaminofenolo	(DAP)
Idrochinone	
1-4 diidrossibenzene	(H)
α-Naftolo	(αN)
Pirogallolo	
1-2-3 triidrossibenzene	(P)
Resorcina	
1-3 diidrossibenzene	(R)

2. PRINCIPIO

I coloranti di ossidazione sono estratti a pH 10 dalle tinture sotto forma di crema o di liquido mediante etanolo a 96 % e identificati mediante cromatografia in strato sottile monodimensionale (5) e/o bidimensionale (6).

Per il dosaggio semiquantitativo delle sostanze si raffronta il cromatogramma dei campioni, ottenuti mediante quattro sistemi di sviluppo, con quello delle soluzioni delle sostanze di riferimento cromatografate contemporaneamente.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

3.1. Etanolo assoluto

3.2. Acetone

3.3. Etanolo 96 % (v/v)

3.4. Idrossido di ammonio al 25 % ($d_4^{20} = 0,91$)

(1) Le sostanze 1-2 diaminobenzene (o. fenilendiamina) e 2-4 diaminotoluene (m. toluilendiamina) non possono entrare nella composizione dei prodotti cosmetici: v. voci 363 e 364 dell'allegato II della legge 11 ottobre 1986, n. 713.

3.5. L(+) acido ascorbico

3.6. Cloroformio

3.7. Cicloesano

3.8. Azoto tecnico

3.9. Toluene

3.10. Benzene

3.11. n-Butanolo

3.12. Butan-2-olo

3.13. Acido ipofosforoso al 50 %

3.14. Reattivo diazoico :

potranno essere utilizzati :

- il 4-nitro-1-benzendiazonio salificato e stabilizzato con lo ione clorobenzensolfonato (per esempio Rosso 2 JN della Francolor o equivalente),
- il 2-cloro-4-nitro-1-benzendiazonio salificato e stabilizzato con lo ione naftalenbenzoato (per esempio NNCD Reagent — Ref. n. 74150 della FLUKA o equivalente).

3.15. Nitrato d'argento

3.16. p-Dimetilaminobenzaldeide

3.17. 2-5 Dimetilfenolo

3.18. Cloruro ferrico esaidrato

3.19. Acido cloridrico 10 % (m/v)

3.20. **Sostanze di riferimento**

Le sostanze di riferimento sono quelle indicate al paragrafo 1 « Scopo e campo di applicazione ».

Nel caso degli aminocomposti la sostanza di riferimento deve essere costituita esclusivamente dalla forma cloridrata (mono o di) o dalla forma basica.

3.21. **Soluzione di riferimento allo 0,5 % (m/v)**

Preparare una soluzione allo 0,5 % (m/v) di ciascuna delle sostanze di riferimento (3.20).

Pesare 50 mg ± 1 mg di sostanza di riferimento in un matraccio tarato da 10 ml.

Aggiungere 5 ml di etanolo a 96 % (3.3).

Aggiungere 250 mg di acido ascorbico (3.5).

Alcalinizzare mediante soluzione ammoniacale (3.4) fino a un pH di 10 controllato con cartina indicatrice.

Portare a 10 ml con etanolo a 96 % e mescolare.

Le soluzioni possono essere conservate per una settimana in un luogo fresco riparato dalla luce.

In alcuni casi, al momento di aggiungere acido ascorbico e idrossido di ammonio si può produrre del precipitato. È necessario allora lasciar sedimentare prima di procedere al prelievo.

3.22. **Solventi di sviluppo**

3.22.1. Acetone — cloroformio — toluene : 35-24-40 (v/v)

3.22.2. Cloroformio — cicloesano — etanolo assoluto — idrossido di ammonio 25 % ; 80-10-10-1 (v/v)

3.22.3. Benzene — butan-2-olo — acqua : 50-25-25 (v/v). Agitare bene la miscela e prelevare la fase superiore dopo aver decantato alla temperatura di laboratorio (tra 20 e 25 °C).

3.22.4. Butanolo-1 — cloroformio e reattivo M : 7-20-23 (v/v). Lasciare decantare accuratamente a 20—25 °C e prendere la fase inferiore.

Preparazione del reattivo M

NH_4OH al 25 % (v/v) (3.4)	24 parti (v/v)
Acido ipofosforoso al 50 % (3.13)	1 parte (v/v)
H_2O	75 parti (v/v)

Osservazione

I solventi di sviluppo contenenti idrossido di ammonio devono essere agitati bene immediatamente prima dell'uso.

3.23. **Rivelatori**

3.23.1. *Reattivo diazoico*

Fare una soluzione acquosa al 5 % (m/v) del reattivo (3.14) prescelto.

Tale soluzione deve essere preparata al momento dell'impiego.

3.23.2. *Reattivo di Ehrlich*

Disciogliere 2 g di p-dimetilamminobenzaldeide (3.16) in 100 ml di acido cloridrico al 10 % (m/v) (3.19).

3.23.3. *2—5 Dimetilfenolo-cloruro ferrico, esaidrato*

Soluzione 1 :
sciogliere 1 g di dimetilfenolo (3.17) in 100 ml di etanolo a 96 % (3.3)

Soluzione 2 :
sciogliere 4 g di cloruro ferrico esaidrato (3.18) in 100 ml di etanolo a 96 % (3.3)

Al momento della rivelazione si nebulizzano separatamente prima la soluzione 1, poi la soluzione 2.

3.23.4. *Nitrato d'argento ammoniacale*

A una soluzione acquosa al 5 % (m/v) di nitrato d'argento (3.15) aggiungere idrossido di ammonio al 25 % (3.4) fino alla dissoluzione del precipitato. Questo reattivo verrà preparato al momento dell'impiego. Non conservare.

4. ATTREZZATURA

4.1. Normale attrezzatura di laboratorio per cromatografia su strato sottile.

4.1.1. Campana o cappa in plastica o vetro costruita in modo da consentire il mantenimento della lastra cromatografica in atmosfera di azoto durante il deposito delle soluzioni fino allo sviluppo. Questa precauzione è necessaria per via della grande ossidabilità di alcuni coloranti.

4.1.2. Siringa da 10 ul, graduata per intervalli di 0,2 µl con un ago a sezione perpendicolare all'asse longitudinale o meglio un « repeating dispenser » da 50 µl montato su supporto in modo da consentire la sistemazione della lastra in atmosfera di azoto.

4.1.3. Lastrine pronte per l'uso, di gel di silice, di 0,25 mm di spessore, di dimensioni 20 × 20 cm (Macherey e Nagel, Silice G-HR, con supporto in materiale plastico, o equivalenti).

4.2. Centrifuga da 4 000 giri/minuto.

4.3. Tubi per centrifuga da 10 ml con chiusura mediante tappo a vite.

5. MODO DI OPERARE

5.1. **Trattamento dei campioni**

Eliminare i primi 2 o 3 centimetri di crema del tubo. In un tubo per centrifuga (4.3) preliminarmente saturato con azoto introdurre :

300 mg di acido ascorbico

3 g di crema o 3 g di liquido omogeneizzato.

Qualora il pH fosse inferiore a 10 aggiungere qualche goccia di idrossido di ammonio al 25 % (3.4) e portare a 10 ml con etanolo a 96 % (3.3).

Omogeneizzare in atmosfera di azoto, tappare, poi centrifugare a 4 000 giri al minuto per 10 minuti.

Utilizzare la soluzione sovrastante.

5.2. Cromatografia

5.2.1. *Deposizione della soluzione*

Deporre, in atmosfera di azoto su una lastra cromatografica (4.1.3) su 9 punti di partenza 1 µl ciascuna delle soluzioni di riferimento descritte.

Queste soluzioni di riferimento sono suddivise nel modo seguente :

1	2	3	4	5	6	7	8	9
R	P	H	PPD	DAP	PTD	OPD	OTD	MPD
MTD	α N							

Deporre quindi sul 10° e sull'11° punto 2 µl delle soluzioni campione ottenute al punto 5.1. Conservare la lastra in atmosfera di azoto fino al momento in cui viene cromatografata.

5.2.2. *Sviluppo*

Introdurre la lastra in una vaschetta saturata con uno dei quattro solventi appropriati (3.22) in atmosfera di azoto e lasciare sviluppare a temperatura ambiente (da 20 a 25 °C) e al buio fino a che il fronte del solvente abbia percorso circa 15 cm a partire dalla linea di partenza.

Estrarre la lastra e asciugarla in atmosfera di azoto a temperatura ambiente.

5.2.3. *Rivelazione*

Nebulizzare subito la lastra con uno dei quattro rivelatori citati al punto 3.23.

5.2.4. *Identificazione*

Si confrontano gli Rf e i colori ottenuti per il campione con quelli delle sostanze di riferimento.

Sono indicati nella tabella I, a titolo indicativo, gli Rf e le colorazioni ottenute per ciascuna sostanza in funzione dei diversi solventi di sviluppo e dei rivelatori.

In caso di identificazione dubbia si può, talvolta, ottenere una conferma aggiungendo al campione in esame la sostanza di riferimento corrispondente.

5.2.5. *Dosaggio semiquantitativo*

Si confronta visivamente l'intensità del colore della macchia corrispondente alla sostanza identificata come in 5.2.4 con quella delle macchie corrispondenti a deposizioni di soluzioni della sostanza di riferimento aventi concentrazione nota ed appropriata.

Quando la concentrazione nel campione del componente da analizzare è troppo alta, diluire convenientemente la soluzione da cromatografare ed effettuare un nuovo dosaggio.

TABELLA I

Rf e colorazioni ottenute immediatamente dopo rivelazione

Prodotti di riferimento (3.20)	Solventi di sviluppo				Rivelatori			
	Rf				Colorazioni			
	3.22.1	3.22.2	3.22.3	3.22.4	Reattivo diazoico (3.23.1)	Reattivo di Ehrlich (3.23.2)	Reattivo di dimetilfenolo (3.23.3)	Reattivo di nitrato d'argento (3.23.4)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	Marrone pallido	—	—	Marrone pallido
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	Marrone violaceo*	Giallo	Marrone pallido	Marrone pallido
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	Marrone	Rosso vivo*	Violetto	Grigio
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	Marrone*	Arancione pallido	Marrone pallido	Marrone-grigio
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	Marrone rosso*	Giallo	Marrone	Nero
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	Marrone	Arancione	Violetto*	Grigio
DAP	0,07	—	0	0,05	Marrone*	Arancione	Violetto	Marrone
H	0,50	0,35	0,80	0,20	—	Arancione	Violetto	Nero*
α N	0,90	0,80	0,90	0,75	Arancione marrone	—	Violetto*	Nero
P	0,37	—	0,67	0,05	Marrone	Violetto chiarissimo	Marrone chiarissimo	Marrone*
R	0,50	0,37	0,80	0,17	Arancione*	Violetto pallido	Marrone chiarissimo	Marrone pallido

Note: 1. L'OPD è rivelato debolmente, l'eluente 3.22.3 deve essere utilizzato per separarlo nettamente dall'OTD.
2. * indica la rivelazione ottimale.

6. ESAME MEDIANTE CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONALE SU STRATO SOTTILE

La cromatografia bidimensionale su strato sottile qui descritta rende necessario il ricorso ai reattivi e prodotti supplementari di seguito elencati.

6.1. **Sostanze e soluzioni di riferimento**

6.1.1. β-Naftolo (β-N)

6.1.2. 2-Aminofenolo (OAP)

6.1.3. 3-Aminofenolo (MAP)

6.1.4. 4-Aminofenolo (PAP)

6.1.5. 2-Nitro-p-fenilendiamina (2 NPPD)

6.1.6. 4-Nitro-o-fenilendiamina (4 NOPD)

Preparare una soluzione allo 0,5 % (m/v) di ciascuna delle suddette sostanze di riferimento, come indicato al punto 3.21.

6.2. **Solvente di sviluppo**

6.2.1. Acetato di etile-cicloesano-idrossido di ammonio al 25 % : 65-35-0,5 (v/v)

6.3. **Rivelatore**

Sistemare in una vaschetta per cromatografia su strato sottile circa 2 g di iodio, contenuti in un opportuno recipiente e chiudere ermeticamente.

6.4. **Cromatografia**

6.4.1. Tracciare, come indicato nella figura 1, due linee sullo strato di silice di una lastra cromatografica per strato sottile (4.1.3).

6.4.2. In atmosfera di azoto, deporre sul punto di partenza 1 (figura 1) da 1 a 4 µl di estratto (5.1). La quantità dipende dall'intensità delle macchie ottenute sul cromatogramma (5.2).

6.4.3. Deporre, suddivisi tra i punti 2 e 3 (figura 1), i coloranti di ossidazione identificati (o supposti identificati) al punto 5.2. Distanza tra le macchie 1,5 cm. Deporre 2 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento ad eccezione del DAP di cui è necessario deporre 6 µl. Operare in atmosfera di azoto (6.4.2).

6.4.4. Ripetere l'operazione descritta al punto 6.4.3 per i punti di partenza 4 e 5 (figura 1) e conservare la lastra in atmosfera di azoto fino all'effettuazione della cromatografia.

6.4.5. Saturare una vaschetta per cromatografia con azoto e introdurre una quantità appropriata di solvente di sviluppo (3.22.2). Sistemare la lastra (6.4.4) nella vaschetta e cromatografare nella prima direzione d'eluizione (figura 1) al riparo dalla luce. Cromatografare fino al momento in cui il fronte del solvente raggiunga la linea tracciata sullo strato assorbente.

6.4.6. Estrarre la lastra dalla vaschetta a sistemarla nell'apparecchiatura (4.1) sotto atmosfera di azoto per almeno 1 ora, allo scopo di allontanare il solvente residuo.

6.4.7. Introdurre mediante un cilindro graduato, in una vaschetta dalla quale è stata scacciata completamente l'aria con una corrente di azoto, una quantità appropriata di miscela solvente (6.2.1). In tale vaschetta si sistema la lastrina dopo averla ruotata di 90° rispetto alla prima direzione di sviluppo. Si fa procedere la cromatografia in questa seconda direzione, ed al buio, finché il fronte del solvente non raggiunga la linea tracciata sullo strato di silice. Tale lastrina si asciuga quindi all'aria.

6.4.8. Sistemare la lastra per 10 minuti nella vaschetta cromatografica in atmosfera di vapori di iodio (6.3) e interpretare il cromatogramma bidimensionale mediante i valori Rf e del colore delle sostanze di riferimento cromatografate contemporaneamente (tabella II).

Osservazioni

Per ottenere una migliore colorazione delle macchie lasciare la lastrina, dopo lo sviluppo, ad asciugare per trenta minuti all'aria.

6.4.9. La presenza di coloranti di ossidazione trovati in 6.4.8 può essere confermata inequivocabilmente ripetendo le operazioni descritte dal punto 6.4.1 al punto 6.4.8 compreso, aggiungendo sul punto di partenza 1, accanto alla quantità di estratto prescritta in 6.4.2, 1 µl delle sostanze di riferimento identificate in 6.4.8.

Se non viene trovata alcun'altra macchia, per raffronto col cromatogramma ottenuto in 6.4.8, l'interpretazione del cromatogramma 6.4.8 è corretta.

TABELLA II

Colore delle sostanze di riferimento cromatografate e rivelate mediante vapori di iodio

Sostanze di riferimento	Colorazione dopo rivelazione ai vapori di iodio
R	Beige
P	Marrone
α-N	Violetto
β-N	Marrone chiaro
H	Violetto-marrone
MPD	Giallo-marrone
PPD	Violetto-marrone
MTD	Marrone scuro
PTD	Giallo-marrone
DAP	Marrone scuro
AOP	Arancione
MAP	Giallo-marrone
PAP	Violetto-marrone
2-NPPD	Marrone
4-NOPD	Arancione

Figura 1

Direzione II

4
5
1,5 cm
5 cm
13 cm
2 cm
1
Direzione I
1,5 cm
2 3
2 cm
13 cm
5 cm

VIII. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DEI NITRITI

A. IDENTIFICAZIONE

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo descritto serve all'identificazione dei nitriti nei prodotti cosmetici ; esso è applicabile, in particolare, alle creme, ai prodotti pastosi e ai dentifrici.

2. PRINCIPIO

La rilevazione dei nitriti ha luogo mediante il fenilidrazone della 2-aminobenzaldeide.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica

3.1. Acido solforico diluito :
diluire 2 ml di acido solforico concentrato (d_4^{20} = 1,84) in 11 ml d'acqua distillata.

3.2. Acido cloridrico diluito :
diluire 1 ml di acido cloridrico concentrato (d_4^{20} = 1,19) in 11 ml di acqua distillata.

3.3. Metanolo

3.4. Soluzione del fenilidrazone della 2-aminobenzaldeide (reagente Nitrina R) in metanolo.

Pesare 2 g di Nitrina R e introdurli in un pallone tarato da 100 ml. Aggiungere goccia a goccia 4 ml di acido cloridrico diluito (3.2) e mescolare. Portare a volume con metanolo (3.3) e agitare finché la soluzione sia completamente limpida. Conservare la soluzione in un flacone di vetro scuro (4.3).

4. ATTREZZATURA

4.1. Becher da 50 ml

4.2. Pallone tarato da 100 ml

4.3. Flacone di vetro scuro da 125 ml

4.4. Lastra di vetro di 10 × 10 cm

4.5. Spatola di materiale sintetico

4.6. Carta da filtro 10 × 10 cm

5. PROCEDIMENTO

5.1. Spandere uniformemente una parte del campione da esaminare sulla lastra di vetro (4.4). Fare attenzione che lo spessore dello strato non sia superiore a 1 cm.

5.2. Immergere un foglio di carta da filtro (4.6) nell'acqua distillata e depositarlo sul campione facendolo aderire convenientemente per mezzo di una spatola (4.5).

5.3. Attendere circa 1 minuto e versare al centro della carta da filtro:

— 2 gocce di acido solforico diluito (3.1) e poi

— 2 gocce della soluzione di Nitrina (3.4).

5.4. Dopo 5-10 secondi, togliere la carta da filtro ed esaminarla alla luce del giorno. Una colorazione rosso-violetta indica la presenza di nitriti.

Quando il tenore di nitriti è poco elevato, il colore violetto vira al giallo dopo 5-15 secondi. Quando il tenore di nitriti è più elevato, il cambiamento di colore ha luogo soltanto dopo 1-2 minuti.

6. NOTA

L'intensità del colore violetto e il tempo per il viraggio al giallo può dare una indicazione del tenore dei nitriti nel campione.

B. DETERMINAZIONE

1. SCOPO E CAMPO D'APPLICAZIONE

Il metodo descrive il dosaggio dei nitriti nei prodotti cosmetici.

2. DEFINIZIONE

Il tenore in nitriti del campione determinato in base al metodo indicato è espresso come percentuale in massa di nitrito sodico.

3. PRINCIPIO

Dopo diluizione in acqua e chiarificazione del campione, si fa reagire il nitrito presente con solfanilamide e N-1-naftil-etilendiammina. Si sviluppa un colore la cui assorbanza si misura a 538 nm.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Reattivi per la chiarificazione (tali reattivi non devono essere utilizzati una settimana dopo la loro preparazione)

4.1.1. Reattivo Carrez I

Sciogliere 106 g di ferrocianuro (II) di potassio, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, nell'acqua distillata e portare con acqua a 1 000 ml.

4.1.2. Reattivo Carrez II

Sciogliere 219,5 g di acetato di zinco, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ e 30 ml di acido acetico glaciale nell'acqua distillata e portare con acqua a 1 000 ml.

4.2. Soluzione di nitrito sodico

In un pallone tarato da 1 000 ml sciogliere 0,500 g di nitrito sodico in acqua distillata e portare a volume. Diluire con acqua 100 ml di questa soluzione madre fino al volume di 500 ml; la concentrazione di questa soluzione è tale che 1,0 ml corrisponde a 10 µg di nitrito di sodio.

4.3. Soluzione di idrossido di sodio 1N

4.4. Soluzione di cloridrato di solfanilamide allo 0,2 %

Sciogliere 2,0 g di solfanilamide in 800 ml di acqua, riscaldando.

Lasciar raffreddare e aggiungere 100 ml di HCl concentrato, agitando.

Portare con acqua al volume di 1 000 ml.

4.5. Acido cloridrico 5 N

4.6. Reattivo N 1 naftile

La soluzione deve essere preparata il giorno stesso dell'impiego.

Sciogliere 0,1 g di dicloridrato di N-1-naftiletilendiammina in acqua e portare al volume di 100 ml.

5. APPARECCHIATURE

5.1. Bilancia analitica

5.2. Palloni tarati da 100, 250, 500 e 1 000 ml

5.3. Pipette tarate

5.4. Cilindri graduati da 100 ml

5.5. Filtro a pieghe, esente da nitriti, di 15 cm di diametro

5.6. Bagnomaria

5.7. Spettrofotometro con celle di 1 cm di percorso ottico

5.8. pH metro

5.9. Microburette da 10 ml

5.10. Becher da 50 ml

6. PROCEDIMENTO

6.1. Pesare con la precisione di 0,1 mg, circa 0,5 g (m) del campione omogeneizzato, introdurlo dentro un pallone da 250 ml con acqua distillata calda al volume di 150 ml circa. Tenere a bagnomaria a 80° per una mezz'ora, agitando di tanto in tanto il contenuto.

6.2. Lasciare raffreddare il contenuto alla temperatura ambiente e aggiungere successivamente agitando 2 ml del reattivo Carrez I (4.1.1) e 2 ml del reattivo Carrez II (4.1.2).

6.3. Portare il pH a 8,3 per mezzo di una soluzione 1 N di idrossido di sodio (4.3). Usare un pH metro per la misurazione del pH della soluzione. Trasferire quantitativamente il contenuto in un matraccio tarato da 250 ml e portare a volume con acqua distillata.

6.4. Agitare il contenuto e filtrare su filtro a pieghe (5.5).

6.5. Pipettare un'opportuna quantità (V ml) di filtrato limpido, ma in ogni caso non più di 25 ml, in un matraccio tarato da 100 ml e diluire con acqua distillata a 60 ml.

6.6. Dopo aver mescolato, aggiungere 10,0 ml di soluzione di acido cloridrico 5 N (4.5). Mescolare e lasciare riposare per 5 minuti. Aggiungere 2,0 ml del reattivo N-1-naftile (4.6), mescolare e lasciar riposare per 3 minuti. Portare con acqua al volume di 100 ml e mescolare.

6.7. Preparare un saggio in bianco ripetendo le operazioni descritte in 6.5 e 6.6 senza aggiunta del reattivo N-1-naftile (4.6).

6.8. Misurare (5.7) la densità ottica, a 538 nm, della soluzione campione (6.6) in confronto con il « bianco » (6.7).

6.9. Leggere sulla curva di taratura (6.10) il tenore in nitrito di sodio in µg per 100 ml di soluzione da misurare (m_1) che corrisponda all'estinzione misurata per il campione (6.8).

6.10 Curva di taratura
Preparare, usando la soluzione di nitrito di sodio (4.2) una serie di soluzioni a differenti concentrazioni (0-20-40-60-80-100 µg di sodio nitrito per 100 ml). Dopo reazione, misurare per ognuna di esse l'assorbanza a 538 nm e costruire una curva di taratura.

7. CALCOLO

Calcolare il tenore in nitrito di sodio del campione, come percentuale della massa, per mezzo della seguente formula :

$$\% \, NaNO_2 = \frac{250}{V} \times m_1 \times 10^{-6} \times \frac{100}{m} = \frac{m_1}{V \times m \times 40}$$

in cui :

m = la massa in grammi del campione in esame (6.1),

m_1 = il tenore in nitrito di sodio in microgrammi riscontrato in base alle indicazioni del punto 6.9,

V = il numero di ml di filtrato utilizzato per la misurazione (6.5).

8. RIPETIBILITÀ ([1])

Per un contenuto di circa 0,2 % di nitrito di sodio la differenza tra i risultati di due dosaggi paralleli effettuati sul medesimo campione non deve superare lo 0,005 % in valore assoluto.

IX. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DELLA FORMALDEIDE LIBERA

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo descrive l'identificazione ed il dosaggio della formaldeide libera. Esso è applicabile a tutti i prodotti cosmetici ed è articolato in tre punti :

1.1. Identificazione (I)

1.2. Dosaggio colorimetrico con acetilacetone (II)

Questo metodo tuttavia non è applicabile quando la formaldeide è combinata o polimerizzata come nel caso di sostanze che cedano formaldeide.

Se il risultato ottenuto con tale metodo supera la concentrazione massima autorizzata nel prodotto in esame, si deve utilizzare il metodo seguente.

1.3. Dosaggio con bisolfito (III)

Tale metodo evita di tener conto della formaldeide combinata o polimerizzata. Tuttavia interferiscono certe combinazioni labili (per esempio l'esametilentetramina).

Inoltre la determinazione finale, che si compie titrimetricamente, può essere disturbata da parte di sostanze tamponanti.

2. DEFINIZIONE

Il contenuto nel campione di formaldeide libera, determinato secondo questo metodo, viene espresso in percentuale di massa (% m/m).

3. PRINCIPIO

3.1. **Parte I — Identificazione**

La formaldeide in ambiente di acido solforico dà una colorazione rosa o malva con il reattivo di Schiff.

3.2. **Parte II — Dosaggio con acetilacetone**

La formaldeide reagisce con acetilacetone, in presenza di acetato di ammonio, per formare la 3,5 diacetil-1,4-diidrotoluidina, che viene estratta con n-butanolo. Si misura a 410 nm l'assorbanza dell'estratto butanolico.

([1]) Secondo la norma ISO 5725.

3.3. Parte III — Dosaggio con bisolfito

La formaldeide reagisce con il solfito, in ambiente acido e alla temperatura di 0 °C, per formare un composto di addizione. In questa reazione si liberano dei protoni in quantità stechiometrica rispetto alla formaldeide. La titolazione di tali protoni con soluzione di sodio idrossido rappresenta la base del calcolo per determinare la quantità di formaldeide presente.

Una prova in bianco, senza solfito, consente di determinare l'acidità o l'alcalinità del mezzo in esame.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Acido acetico glaciale

4.2. Ammonio acetato anidro

4.3. n-Butanolo

4.4. Acido solforico, circa 2 N

4.5. Soluzione di sodio solfito 0,1 M, preparata di fresco

4.6. Reattivo di Schiff

In un becher pesare 100 mg di fucsina e solubilizzarli alla temperatura di 80 °C con 75 ml di acqua.

Raffreddare ed aggiungere 2,5 g di sodio solfito eptaidrato e 1,5 ml di acido cloridrico concentrato (d_4^{20} : 1,19).

Portare a 100 ml. Questo reattivo non è più usabile due settimane dopo la preparazione.

4.7. Reattivo all'acetilacetone

In un matraccio tarato da 1 000 ml solubilizzare :

150 g di ammonio acetato (4.2)

2 ml di acetilacetone distillato di recente sotto pressione ridotta e tale da non presentare assorbanza a 410 nm

3 ml di acido acetico glaciale (4.1)

Portare a volume con acqua (pH della soluzione circa 6,4). Questo reattivo deve essere preparato di recente.

4.8. Soluzione titolata di acido solforico 0,1 N

4.9. Soluzione titolata di sodio idrossido 0,1 N

4.10. Soluzione titolata di iodio 0,1 N

4.11. Soluzione titolata di sodio tiosolfato 0,1 N

4.12. Soluzione di riferimento concentrata di formaldeide

In un matraccio tarato da 1 000 ml, introdurre 5 g di soluzione di formaldeide al 37—40 % e portare a volume con acqua.

Determinazione del titolo in formaldeide di tale soluzione : prelevare 10,00 ml, aggiungere 25,00 ml di soluzione titolata di iodio (4.10) e 10 ml di soluzione di sodio idrossido 1 N. Lasciare a riposo per 5 minuti.

Acidificare con 11 ml di HCl 1 N e titolare l'eccesso di soluzione titolata di iodio (4.10) con la soluzione titolata di sodio tiosolfato (4.11), usando salda d'amido come indicatore.

1,0 ml di soluzione titolata di iodio (4.10) corrisponde a 1,5 mg di formaldeide.

4.13. Soluzione di riferimento di formaldeide

Prelevare 5,0 ml della soluzione concentrata (4.12) in un matraccio tarato da 100 ml e portare a volume con acqua demineralizzata. Prelevare 5,0 ml della suddescritta soluzione e diluirli in un matraccio tarato da 500 ml portando a volume con acqua demineralizzata. 1 ml di quest'ultima soluzione contiene circa 1 µg di formaldeide. Questo titolo va controllato esattamente.

4.14. Soluzione di timolftaleina

Solubilizzare 100 mg di timolftaleina con 100 ml di etanolo 50 % (v/v)

4.15. Reattivo (4.7) preparato nelle medesime condizioni ma privo di acetilacetone

5. APPARECCHIATURA

5.1. Materiale comune di laboratorio

5.2. Filtro « separatore di fasi », Whatman 1 PS o analogo

5.3. Centrifuga

5.4. Spettrofotometro

5.5. Cellette di vetro con cammino ottico di 1 cm

5.6. Potenziometro munito di registratore

5.7. Elettrodi di vetro/calomelano (si raccomanda di usare elettrodi adatti a basse temperature).

6. MODALITÀ OPERATIVE

6.1. Identificazione

6.1.1. In un becher da 10 ml introdurre circa 2 g di campione

6.1.2. Aggiungere 2 gocce di acido solforico (4.4) e 2 ml di reattivo di Schiff (4.6) rigorosamente incolore. Agitare e lasciare a riposo per 5 minuti

6.1.3. Se entro 5 minuti si nota una colorazione rosa o malva, la quantità di formaldeide presente è superiore allo 0,01 %. Procedere allora al dosaggio come descritto al punto 6.2 e se necessario 6.3

6.2. Dosaggio colorimetrico con acetilacetone

6.2.1. *Preparazione della soluzione del campione da analizzare*

6.2.1.1. In un matraccio tarato da 100 ml pesare con la precisione di 0,001 g, una quantità (m espressa in g) di campione da analizzare, tale da contenere circa 150 µg di formaldeide

6.2.1.2. Portare a volume con acqua e mescolare

6.2.1.3. Porre in una beuta da 50 ml :
10,00 ml di soluzione (6.2.1.2)
5,00 ml di reattivo all'acetilacetone (4.7)
Acqua demineralizzata fino ad un volume totale di 30 ml

6.2.2. *Soluzione di riferimento*

Le possibili interferenze di un colore di fondo presente nel campione in esame possono essere eliminate con questa soluzione di riferimento :

Porre in una beuta da 50 ml :

10,00 ml di soluzione (6.2.1.2)

5,00 ml di soluzione (4.13)

Acqua demineralizzata fino ad un volume totale di 30 ml

6.2.3. *Soluzione per la prova in bianco*
Porre in una beuta da 50 ml :
5,00 ml di reattivo all'acetilacetone (4.7)
Acqua demineralizzata fino ad un volume totale di 30 ml

6.2.4. *Dosaggio*

6.2.4.1. Agitare le soluzioni preparate come indicato ai punti 6.2.1.3, 6.2.2 e 6.2.3.
Immergere le beute in un bagnomaria alla temperatura di 60 °C per 10 minuti esatti.
Raffreddare poi ponendo le suddette beute per 2 minuti in un bagno d'acqua ghiacciata.

6.2.4.2. Trasferire separatamente il contenuto di ogni beuta in un imbuto separatore da 50 ml, contenente 10,0 ml di n-butanolo (4.3). Lavare ogni beuta con 3-5 ml di acqua ed aggiungere tale soluzione ai rispettivi imbuti separatori. Agitare vigorosamente ogni imbuto separatore per 30 secondi esatti. Lasciare decantare

6.2.4.3. Filtrare le fasi organiche con filtro « separatore di fasi » (5.2) nelle cellette di misura (5.5).

Si può ugualmente utilizzare una centrifugazione della fase organica (5 000 giri/minuto per 5 minuti)

6.2.4.4. Misurare l'assorbanza A_1 a 410 nm della fase organica della soluzione 6.2.1.3 rispetto alla fase organica della soluzione 6.2.2

6.2.4.5. Analogamente misurare l'assorbanza A_2 della fase organica della soluzione 6.2.3 rispetto al n-butanolo (4.3)

NB : Queste operazioni devono avvenire entro 25 minuti dall'inizio della termostatazione a 60 °C.

6.2.5. *Curva di taratura*

6.2.5.1. Porre in una beuta da 50 ml :

5,00 ml di soluzione di riferimento diluita (4.13)

5,00 ml di reattivo all'acetilacetone (4.7)

Acqua demineralizzata fino ad un volume totale di 30 ml

6.2.5.2. Continuare il procedimento analitico come descritto in 6.2.4.5 e misurare l'assorbanza usando n-butanolo (4.3) come riferimento

6.2.5.3. Ripetere il procedimento con 10, 15, 20, 25 ml di soluzione standard diluita (4.13)

6.2.5.4. Per ottenere il valore del punto 0 (corrispondente all'assorbanza del reattivo) procedere come descritto al punto 6.2.4.5.

6.2.5.5. Costruire la curva di taratura dopo sottrazione del valore dell'assorbanza del punto 0 al valore di ogni assorbanza ottenuta ai punti 6.2.5.1 e 6.2.5.3

La legge di Beer è rispettata per una quantità di formaldeide che non superi i 30 µg.

6.3. **Dosaggio con bisolfito**

6.3.1. *Prelievo del campione*

6.3.1.1. Campione da sottoporre ad analisi

In un becher tarato pesare, con la precisione di 0,001 g, una massa di campione (m espresso in g) corrispondente ad una quantità di formaldeide compresa tra 3 e 20 mg

6.3.1.2. Campione di riferimento

Nelle stesse condizioni pesare una quantità analoga (m' espresso in g) dello stesso campione

6.3.2. *Determinazione*

6.3.2.1. Porre in un becher da 100 ml 50,00 ml di soluzione di sodio solfito (4.5) ed aggiungere 10,00 ml di soluzione di acido solforico (4.8). Mescolare

6.3.2.2. Porre il becher in un miscela di ghiaccio e sale portando la temperatura della soluzione 6.3.2.1 a 2 °C

Aggiungere quantitativamente il prelievo di campione m (6.3.1.1)

6.3.2.3. Titolare rapidamente potenziometricamente con soluzione di sodio idrossido (4.9) agitando di continuo e controllando che la temperatura resti costante tra 2 °C e 4 °C (Il punto di neutralità si osserva tra pH 9 e 11. Sia V_1 il volume di soluzione di sodio idrossido (4.9) consumato espresso in ml

6.3.3. *Prova in bianco*

Titolare la soluzione 6.3.2.1 nelle condizioni descritte al punto 6.3.2. Sia V_2 il volume di soluzione di sodio idrossido (4.9) consumato espresso in ml

6.3.4. *Prova sul campione riferimento*

Determinare l'acidità o l'alcalinità del campione in esame per titolazione potenziometrica con soluzione di sodio idrossido (4.9) o di acido solforico (4.8) del prelievo di campione m' (6.3.1.2)

Sia V' il volume di soluzione di sodio idrossido o di acido solforico utilizzato espresso in ml. V' può essere uguale a 0

6.3.5. *NB:*

È importante attenersi scrupolosamente alle modalità operative descritte.

È possibile effettuare il dosaggio in presenza di soluzione di timolftaleina (4.14) come indicatore.

7. CALCOLI

7.1. Dosaggio colorimetrico con acetilacetone

7.1.1. Sottrarre il valore di A_2 e A_1 e leggere sulla curva di taratura (6.2.5.5) la quantità C di formaldeide espressa in µg contenuta nella soluzione (6.2.1.1)

7.1.2. Il contenuto in formaldeide del campione espresso in percentuale di massa (% m/m) si calcola con la seguente formula :

$$\% \text{ formaldeide} = \frac{C}{10^3 \cdot m}$$

7.2. Dosaggio con bisolfito

Correlare il volume di sodio idrossido (4.9) o di acido solforico (4.8) (V'), consumato nella prova sul campione di riferimento m' (6.3.4) alla massa di campione da analizzare m mediante la seguente formula :

$$v = \frac{v' \cdot m}{m'}$$

Per prodotti neutri v = 0

7.2.1. Per prodotti acidi

$$\% \text{ formaldeide} = \frac{0{,}30\,(V_2 - V_1 + v)}{m}$$

7.2.2. Per prodotti alcalini

$$\% \text{ formaldeide} = \frac{0{,}30\,(V_2 - V_1 - v)}{m}$$

7.3. Se i risultati dei due metodi differiscono, bisogna prendere in considerazione il valore più basso.

8. RIPETIBILITÀ (1)

Per un contenuto di formaldeide dello 0,2 %, la differenza fra i risultati di due determinazioni parallele effettuate sullo stesso campione non deve superare :

0,005 % per il dosaggio colorimetrico con acetilacetone

0,05 % per il dosaggio con bisolfito.

---

(1) Secondo la norma ISO 5725.

X. DETERMINAZIONE DELLA RESORCINA NEGLI SHAMPOO E NELLE LOZIONI PER CAPELLI

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il presente metodo descrive la determinazione gascromatografica della resorcina negli shampoo e lozioni per capelli.

Esso è applicabile per concentrazioni di resorcina in prodotti finiti oscillanti tra 0,1 % e 2 % in massa.

2. DEFINIZIONE

Il titolo di resorcina determinato secondo questo metodo si esprime in percentuale di massa.

3. PRINCIPIO

La resorcina ed il 3,5-diidrossitoluene, aggiunto come standard interno, vengono separati dal campione in esame mediante cromatografia su strato sottile. I due composti vengono poi isolati raschiando via dalla lastrina cromatografica le aree di gel di silice corrispondenti alle loro macchie ed eluendole con metanolo. Infine i composti estratti vengono essiccati, sililati e determinati gascromatograficamente.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Acido cloridrico 25 % (m/m)

4.2. Metanolo

4.3. Etanolo 96 % (v/v)

4.4. Lastrine di gel di silice con indicatore di fluorescenza, pronte per l'uso, supportate su fogli di alluminio o plastica, disattivate (dim. 20 × 20 cm). Disattivare nel seguente modo : spruzzare le lastrine con acqua finché assumano un aspetto brillante.

Asciugarle a temperatura ambiente per 1-3 ore.

NB :

Se le lastrine non sono disattivate si può avere una perdita di resorcina per adsorbimento irreversibile sulla silice.

4.5. Solvente di sviluppo : acetone-cloroformio-acido acetico (20-75-5 v/v)

4.6. Soluzione di riferimento di resorcina : solubilizzare 400 mg di resorcina esattamente pesati in 100 ml di etanolo (4.3) (1 ml corrisponde a 4 000 µg di resorcina)

4.7. Soluzione di standard interno : solubilizzare 400 mg di 3,5-diidrossitoluene (DIT) in 100 ml di etanolo (4.3) (1 ml corrisponde a 4 000 µg di DIT)

4.8. Miscela standard: 10 ml di soluzione 4.6 e 10 ml di soluzione 4.7 vengono pipettati in un matraccio tarato da 100 ml. Si porta a volume con etanolo (4.3) e si agita (1 ml corrisponde a 400 µg di resorcina e 400 µg di DIT)

4.9. Agenti sililanti

4.9.1. N, O-bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamide (BSTFA)

4.9.2. Esametildisilazano (HMDS)

4.9.3. Trimetilclorosilano (TMCS)

5. APPARECCHIATURA

5.1. Attrezzatura comune per cromatografia su strato sottile ed in fase gassosa

5.2. Vetreria comune di laboratorio

6. PROCEDIMENTO

6.1. **Preparazione dei campioni**

6.1.1. Pesare accuratamente, in un becher da 150 ml, una quantità (M grammi) di prodotto tale da contenere approssimativamente da 20 a 50 mg di resorcina.

6.1.2. Acidificare con acido cloridrico (4.1) (circa 2-4 ml). Aggiungere 10 ml (40 mg di DIT) della soluzione di standard interno (4.7) e mescolare.

Trasferire in un matraccio tarato da 100 ml con l'ausilio di etanolo (4.3), portare a volume con lo stesso solvente ed agitare.

6.1.3. Depositare 250 µl della soluzione 6.1.2 su di una lastrina di gel di silice disattivata (4.4) su una linea continua di 8 cm di lunghezza. Assicurarsi che tale deposizione sia il più possibile sottile.

6.1.4. Depositare nelle medesime condizioni (6.1.3) e sulla stessa lastra 250 µl di miscela standard (4.8).

6.1.5. Depositare sempre su questa lastrina, parallelamente alle due deposizioni descritte (6.1.3 e 6.1.4) in due punti diversi 5 µl di ciascuna delle soluzioni 4.6 e 4.7 in modo da facilitare la localizzazione delle macchie dopo lo sviluppo della lastra.

6.1.6. Sviluppare la lastrina in una vaschetta non saturata, contenente il solvente di sviluppo 4.5 finché il fronte del solvente non abbia percorso 12 cm dalla linea di partenza (45 minuti). Asciugare la lastrina all'aria e localizzare le macchie della resorcina e del DIT, con la luce di una lampada UV a 254 nm. I due composti hanno all'incirca lo stesso valore di Rf. Delimitare le aree di ciascuna macchia, raschiare via dalla lastrina la silice corrispondente e raccoglierla separatamente in un matraccio da 10 ml.

6.1.7. Estrarre la silice che contiene la miscela standard ed il campione da analizzare nel modo seguente : aggiungere 2 ml di metanolo (4.2) ed estrarre per 1 ora con agitazione continua. Filtrare e ripetere l'estrazione per altri 15 minuti con 2 ml di metanolo (4.2).

6.1.8. Riunire gli estratti metanolici ed evaporare il solvente lasciando i suddetti estratti in un essiccatore sotto vuoto per una notte in presenza di un opportuno agente essiccante. Non riscaldare

6.1.9. Silicare i residui (6.1.8) come indicato in 6.1.9.1 e 6.1.9.2.

6.1.9.1. Aggiungere 200 µl di BSTFA (4.9.1) con una microsiringa e lasciare la miscela in un recipiente chiuso per 12 ore a temperatura ambiente.

6.1.9.2. Aggiungere successivamente 200 µl di HMDS (4.9.2) e 100 µl di TMCS (4.9.3) con una microsiringa e riscaldare a 60 °C per 30 minuti in un recipiente chiuso. Raffreddare successivamente.

6.2. **Gascromatografia**

6.2.1. *Condizioni cromatografiche*

La fase stazionaria contenuta nella colonna deve dare un fattore di risoluzione R uguale o superiore a 1,5

$$R = 2 \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

in cui :

R_1 e R_2 sono i tempi di ritenzione di due picchi espressi in minuti ;

W_1 e W_2 sono le ampiezze degli stessi due picchi, misurate a metà altezza ed espresse in mm ;

d' è la velocità di scorrimento della carta del registratore espressa in mm/min.

Le seguenti condizioni operative permettono di ottenere i risultati voluti :

Materiale di costruzione della colonna : tubo di acciaio inossidabile

lunghezza :	200 cm
diametro interno :	~3 mm
supporto :	Chromosorb WAW 100—120 mesh
riempimento :	OV-17 al 10 %

Rivelatore : ionizzazione di fiamma

Temperature :

colonna :	185 °C
iniettore :	250 °C
rivelatore :	250 °C

Gas di trasporto : azoto

Flusso dell'azoto : 45 ml/min.

Il flusso dell'idrogeno e dell'aria, che alimentano il rivelatore, deve essere regolato in base alle specifiche del costruttore.

6.2.2. Iniettare per ogni soluzione ottenuta (6.1.9) una quantità compresa tra 1 e 3 µl. Per ogni soluzione ripetere cinque iniezioni. Misurare la superficie dei picchi cromatografici che si ottengono, trovarne la media, e calcolare il rapporto S :

$$S = \frac{\text{superficie del picco della resorcina}}{\text{superficie del picco del DIT}}$$

7. CALCOLO

La concentrazione della resorcina nel campione espressa come percentuale di massa (% m/m) è data dalla seguente formula :

$$\% \ (m/m) = \frac{4}{M} \times \frac{S_{campione}}{S_{miscela\ standard}}$$

in cui:

M	è il prelievo del campione espresso in g (6.1.1),
$S_{campione}$	è la media dei rapporti delle aree dei picchi per la soluzione campione secondo 6.2.2,
$S_{miscela\ standard}$	è la media dei rapporti delle aree dei picchi per la miscela standard secondo 6.2.2.

8. RIPETIBILITÀ [1]

Per un contenuto in resorcina dell'ordine dello 0,5 % (m/m), la differenza fra i risultati di due determinazioni effettuate in parallelo sullo stesso campione, non deve essere superiore allo 0,025 %.

XI. DETERMINAZIONE DEL METANOLO IN RELAZIONE ALL'ETANOLO O ALL'ISOPROPANOLO

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Questo metodo descrive la determinazione gascromatografica del metanolo in tutti i tipi di prodotti cosmetici compresi i prodotti aerosol. Esso consente di determinare concentrazioni relative comprese tra lo 0 ed il 10 %.

2. DEFINIZIONE

Il titolo in metanolo determinato con questo metodo è espresso in percentuale di massa di metanolo rispetto alla massa di etanolo o di isopropanolo.

3. PRINCIPIO

Il dosaggio si effettua per cromatografia in fase gassosa.

---

[1] Secondo la norma ISO 5725.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Metanolo

4.2. Etanolo assoluto

4.3. Isopropanolo

4.4. Cloroformio lavato con acqua per eliminare eventuali alcoli

5. APPARECCHIATURA

5.1. Cromatografo in fase gassosa munito di rivelatore a conducibilità termica per campioni aerosol, e di rivelatore a ionizzazione di fiamma per tutti gli altri campioni

5.2. Matracci tarati da 100 ml

5.3. Pipette da 1, 2, 20 ml

5.4. Microsiringhe da 0-100 µl e da 0-5 µl

Per i soli campioni aerosol, siringa speciale da gas con valvola scorrevole (figura 5 del metodo di campionamento) (¹)

6. MODALITÀ OPERATIVE

6.1. **Preparazione dei campioni**

6.1.1. I prodotti in forma di aerosol sono trattati come indicato nel capitolo II della direttiva 80/1335/CEE, del 22 dicembre 1980 (¹), e quindi analizzati per cromatografia in fase gassosa come descritto al punto 6.2.1.

6.1.2. Gli altri prodotti trattati come indicato nel succitato capitolo II, sono diluiti con acqua fino ad una concentrazione compresa tra 1 e 2 % di etanolo o di isopropanolo ed analizzati per cromatografia in fase gassosa come descritto al punto 6.2.2.

6.2. **Condizioni gascromatografiche**

6.2.1. Per campioni sotto forma di aerosol

6.2.1.1. La colonna gascromatografica viene riempita con Hallcomid M 18 al 10 % supportato su Chromosorb WAW 100-120 mesh. Si usi il rivelatore a conducibilità termica

6.2.1.2. La fase stazionaria deve fornire una risoluzione (R) uguale o superiore a 1,5

$$R = 2 \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

in cui

R_1 e R_2 sono i tempi di ritenzione di due picchi espressi in minuti,

W_1 e W_2 sono le ampiezze degli stessi picchi misurate a metà altezza ed espresse in mm,

d' è la velocità di scorrimento della carta del registratore espressa in mm/min.

6.2.1.3. Le seguenti condizioni permettono di ottenere questi risultati

Materiale di costruzione della colonna acciaio inossidabile

lunghezza 350 cm
diametro : 3 mm

Rivelatore a conducibilità termica con un'intensità di corrente pari a 150 mA

(¹) GU n. L 383 del 31. 12. 1980, pag. 27.

Gas di trascinamento elio
pressione di entrata dell'elio 2,5 bar
flusso dell'elio 45 ml/min

Temperature
iniettore 150 °C
rivelatore 150 °C
colonna 65 °C

6.2.2. Per tutti i campioni (eccetto gli aerosol).

6.2.2.1. La colonna cromatografico si riempie con Chromosorb 105 o con Porapak QS. Si usi il rivelatore a ionizzazione di fiamma.

6.2.2.2. La fase stazionaria deve fornire una risoluzione, R, maggiore o uguale a 1,5

$$R = 2 \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

in cui

R_1 e R_2 sono i tempi di ritenzione di due picchi espressi in minuti,

W_1 e W_2 sono le ampiezze degli stessi picchi, misurate a metà altezza, ed espresse in mm,

d' è la velocità di scorrimento della carta del registratore espressa in mm/min.

6.2.2.3. Le seguenti condizioni permettono di ottenere questi risultati

Materiale di costruzione della colonna acciaio inossidabile
lunghezza 200 cm
diametro 3 mm

Sensibilità dell'elettrometro 8 10^{-10} A

Gas di trascinamento azoto
pressione di entrata dell'azoto 2,1 bar
flusso dell'azoto 20 ml/min

Per regolare il flusso di idrogeno e di aria che alimentano il rivelatore a ionizzazione di fiamma, seguire le specifiche del fabbricante

Temperature
iniettore 150 °C
rivelatore 230 °C
colonna 120 °C-130 °C

7. CURVE DI TARATURA

7.1. Nelle condizioni cromatografiche descritte al punto 6.2.1 (fase stazionaria di Hallcomid M 18), si usino le seguenti soluzioni di riferimento. Si preparino queste soluzioni volumetricamente, ma per conoscere le esatte quantità prelevate è più opportuno pesare il recipiente, nel quale si prepara la soluzione di riferimento, immediatamente dopo ogni aggiunta.

Concentrazione relativa espressa in % m/m	Metanolo ml	Etanolo o isopropanolo ml	Aggiunta di cloroformio sino ad un volume di ml
2,5 % circa	0,5	20	100
5,0 % circa	1,0	20	100
7,5 % circa	1,5	20	100
10,0 % circa	2,0	20	100

Iniettare nel gascromatografo da 2 a 3 µl di ognuna di queste soluzioni secondo quanto descritto al punto 6.2.1. Per ogni soluzione calcolare il rapporto delle aree dei picchi metanolo/etanolo o metanolo/isopropanolo. Tracciare la curva di taratura riportando

in ascissa la percentuale di metanolo riferita all'etanolo o all'isopropanolo ,

in ordinata il rapporto delle aree dei picchi ottenuti .metanolo/etanolo o metanolo/isopropanolo.

7.2. Nelle condizioni cromatografiche descritte al punto 6.2.2 (fase stazionaria Porapak QS o Chromosorb 105), si usino le seguenti soluzioni di riferimento. Si preparino queste soluzioni volumetricamente, ma, per conoscere esattamente le quantità prelevate; è più opportuno pesare il recipiente, nel quale si prepara la soluzione di riferimento, immediatamente dopo ogni aggiunta

Concentrazione relativa espressa in % m/m	Metanolo µl	Etanolo o isopropanolo ml	Aggiunta di acqua sino ad un volume di ml
2,5 % circa	50	2	100
5,0 % circa	100	2	100
7,5 % circa	150	2	100
10,0 % circa	200	2	100

Iniettare nel gascromatografo da 2 a 3 µl di ognuna di queste soluzioni secondo quanto descritto al punto 6.2.2. Per ogni soluzione calcolare il rapporto delle aree dei picchi metanolo/etanolo o metanolo/isopropanolo. Tracciare la curva di taratura riportando :

in ascissa : la percentuale di metanolo riferita all'etanolo o all'isopropanolo ;

in ordinata : il rapporto delle aree dei picchi ottenuti metanolo/etanolo o metanolo/isopropanolo.

7.3. Nei due casi le curve di taratura dovranno essere rettilinee.

8. RIPETIBILITÀ [1]

Per contenuti di metanolo del 5 % riferiti all'etanolo o all'isopropanolo, la differenza fra i risultati di due determinazioni parallele effettuate sullo stesso campione non deve superare 0,25 %.

[1] Secondo la norma ISO 5725.

XII. DOSAGGIO DEL DICLOROMETANO E DELL'1,1,1-TRICLOROETANO

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo descritto è adatto al dosaggio di :

— diclorometano (cloruro di metilene),

— 1,1,1-tricloroetano (metilcloroformio),

e si applica a tutti i prodotti cosmetici che possano contenere questi componenti.

2. DEFINIZIONE

Il contenuto del campione in diclorometano e in 1,1,1-tricloroetano dosato con questo metodo è espresso come percentuale di massa.

3. PRINCIPIO

Il dosaggio si effettua per gascromatografia utilizzando il triclorometano come standard interno.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Triclorometano ($CHCl_3$).

4.2. Tetracloruro di carbonio (CCl_4).

4.3. Diclorometano (CH_2Cl_2).

4.4. 1,1,1-tricloroetano (CH_3CCl_3).

4.5. Acetone.

4.6. Azoto puro.

5. ATTREZZATURA

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio e per cromatografia in fase gassosa.

5.2. Gascromatografo munito di rivelatore a conducibilità termica.

5.3. Flacone di trasferimento da 50-100 ml (vedi precedente allegato 1, capitolo II, punto 5.3).

5.4. Siringa da gas adatta a lavorare sotto pressione (vedi precedente allegato 1, capitolo II, punto 5.4, 2.2.)

6. MODALITÀ OPERATIVE

6.1. Pesare esattamente il campione in una beuta con tappo. Introdurre una quantità esattamente pesata di triclorometano (4.1) equivalente alla quantità presunta di dicloroetano contenuta nel campione. Omogeneizzare il contenuto della beuta.

6.2. Utilizzare il metodo di prelievo descritto nei metodi di campionamento ([1]). Tenere tuttavia conto delle seguenti precisazioni.

6.2.1. Introdurre nel flacone di trasferimento (5.3) una quantità di triclorometano (standard interno) (4.1) equivalente alla quantità presunta di diclorometano e di tricloroetano contenuta nel campione. Omogeneizzare il contenuto del flacone. Lavare il volume morto della valvola nel flacone di trasferimento (5.3) con 0,5 ml di tetracloruro di carbonio (4.2) che si lascia evaporare. Determinare la massa di standard interno (4.1) aggiunto, per differenza di pesata del flacone di trasferimento (5.3).

6.2.2. Effettuato il riempimento della siringa con il campione, pulire con azoto (4.6) l'imboccatura della siringa per eliminare, prima dell'iniezione nel gascromatografo, ogni residuo di campione.

6.2.3. Dopo ogni prelievo, l'imboccatura della valvola o dell'eventuale elemento di trasferimento utilizzato deve essere lavata diverse volte con acetone (4.5) (per mezzo di una siringa ipodermica) e quindi asciugata con azoto (4.6).

6.2.4. Per ogni analisi, procedere alle misure su due flaconi di trasferimento diversi. Effettuare cinque misure per flacone.

7. CONDIZIONI CROMATOGRAFICHE

7.1. ***Precolonna***

Materiale : acciaio inossidabile.

Lunghezza : 30 cm.

Diametro : 3 mm o 6 mm.

Riempimento : chromosorb identico a quello contenuto nella colonna analitica.

7.2. ***Colonna***

La fase stazionaria è costituita da Hallcomid M 18 supportato su Chromosorb. Essa deve fornire una risoluzione (R) pari almeno a 1,5 :

$$R = 2 \frac{d'r_2 - d'r_1}{W_1 + W_2}$$

dove :

r_1 e r_2 : tempi di ritenzione espressi in minuti di due picchi,

W_1 e W_2 : ampiezza dei picchi a metà altezza espressa in mm,

d' : velocità di scorrimento della carta del registratore espressa in mm per minuto.

7.3. Le condizioni operative seguenti, date come esempio, consentono di ottenere i risultati voluti :

Colonna	*I*	*II*
Materiale :	acciaio inossidabile	acciaio inossidabile
Lunghezza :	350 cm	400 cm
Diametro :	3 mm	6 mm
Supporto :		
chromosorb :	WAW	WAW DMCS-HP
granulometria :	100-120 mesh	60-80 mesh
Fase stazionaria :	Hallcomid M 18 10 %	Hallcomid M 18 20 %
Temperature :		
colonna :	65 °C	75 °C
iniettore :	150 °C	125 °C
rivelatore :	150 °C	200 °C
Gas di trasporto :		
elio, flusso dell'elio :	45 ml/min	60 ml/min
pressione d'ingresso dell'elio :	2,5 bar	2,0 bar
Volume iniettato :	15 µl	15 µl

8. DETERMINAZIONE DEI COEFFICIENTI DI PROPORZIONALITÀ

Preparare in un matraccio la miscela seguente esattamente pesata e tappare ermeticamente:

Diclorometano (4.3) : 30 % m/m

1,1,1-tricloroetano (4.4): 35 % m/m

Triclorometano (4.1) : 35 % m/m

Tale miscela serve a stabilire i valori dei coefficienti di proporzionalità.

9. CALCOLI

9.1. *Calcolo del coefficiente di proporzionalità di una sostanza « p » rispetto ad una sostanza « a » scelta come standard interno*

Sia per la sostanza « p »

K_p : il suo coefficiente di proporzionalità,

m_p : la sua massa nella miscela,

A_p : l'area del suo picco;

sia per la sostanza «a »

K_a : il suo coefficiente di proporzionalità scelto uguale ad 1,

m_a : la sua massa nella miscela,

A_a : l'area del suo picco:

$$K_p : \frac{m_p \cdot A_a}{m_a \cdot A_p}$$

A titolo di esempio sono stati ottenuti i seguenti valori di coefficiente di proporzionalità assunto che per il triclorometano il coefficiente di proporzionalità sia uguale ad 1:

Diclorometano : $K_1 = 0{,}78 \pm 0{,}03$

1,1,1-tricloroetano : $K_2 = 1{,}00 \pm 0{,}03$

9.2. *Calcolo delle percentuali (m/m) di diclorometano e 1,1,1-tricloroetano presenti nei campioni da analizzare*

Siano:

K_1 : coefficiente di proporzionalità del diclorometano,

K_2 : coefficiente di proporzionalità dell'1,1,1-tricloroetano,

m_a : massa in g di triclorometano (4.1) introdotto come standard interno,

m_c : massa in g del campione da analizzare,

A_a : area del picco del triclorometano,

A_1 : area del picco del diclorometano,

A_2 : area del picco dell'1,1,1-tricloroetano.

Le percentuali (m/m) del diclorometano e dell'1,1,1-tricloroetano si calcolano nel modo seguente:

$$\% \text{ (m/m) diclorometano} = \frac{m_a \cdot A_1 \cdot K_1 \cdot 100}{A_a \cdot m_c}$$

$$\% \text{ (m/m) 1,1,1-tricloroetano} = \frac{m_a \cdot A_2 \cdot K_2 \cdot 100}{A_a \cdot m_c}$$

10. RIPETIBILITÀ (1)

Per un contenuto di circa il 25 % (m/m), la differenza tra i risultati di due dosaggi paralleli effettuati sul medesimo campione non deve superare il 2,5 % in valore assoluto.

(1) Secondo la norma ISO 5725.

XIII. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DELL'IDROSSI-8-CHINOLINA E SUO SOLFATO

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il presente metodo descrive l'identificazione e il dosaggio dell'idrossi-8-chinolina e del suo solfato.

2. DEFINIZIONE

Il contenuto del campione in idrossi-8-chinolina determinato secondo il presente metodo è espresso in percentuale di massa di idrossi-8-chinolina.

3. PRINCIPIO

3.1. *Identificazione*

Questa viene effettuata per cromatografia su strato sottile.

3.2. *Dosaggio*

Questo viene effettuato per fotometria, a 410 nm, del complesso di rame ottenuto per reazione con il liquido di Fehling.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Idrossi-8-chinolina

4.2. Benzene (vista la tossicità del prodotto, prendere le precauzioni adeguate).

4.3. Cloroformio.

4.4. Soluzione di idrossido di sodio al 50 % m/m.

4.5. Solfato di rame pentaidrato ($CuSO_4$ $5H_2O$).

4.6. Tartrato doppio di potassio e di sodio.

4.7. Acido cloridrico 1N.

4.8. Acido solforico 1N.

4.9. Soluzione di idrossido di potassio 1N.

4.10. Etanolo.

4.11. Butan-1-olo.

4.12. Acido acetico glaciale.

4.13. Acido cloridrico 0,1N.

4.14. Celite 545 o prodotto equivalente.

4.15. ***Soluzioni di confronto***

4.15.1. Pesare 100,0 mg di idrossi-8-chinolina (4.1) in un matraccio tarato da 100 ml, disciogliere in poco acido solforico 1N (4.8). Portare a volume con acido solforico 1N (4.8);

4.15.2. Pesare 100 mg di idrossi-8-chinolina (4.1) in un matraccio tarato da 100 ml, disciogliere in etanolo (4.10), portare a volume con lo stesso solvente e mescolare.

4.16. ***Liquido di Fehling***

Soluzione A

In un matraccio tarato da 100 ml pesare 7 g di solfato di rame (4.5). Disciogliere in una piccola quantità d'acqua, portare a volume con acqua e mescolare.

Soluzione B

In un matraccio tarato da 100 ml pesare 35 g di tartrato di potassio e di sodio (4.6) e disciogliere in 50 ml d'acqua. Aggiungere 20 ml di sodio idrossido al 50 % (4.4), portare a volume con acqua e mescolare.

Immediatamente prima dell'uso, pipettare 10 ml di soluzione A e 10 ml di soluzione B in un matraccio tarato da 100 ml. Portare a volume con acqua e mescolare.

4.17. ***Solventi di sviluppo***

Solvente I = Butan-1-olo : acido acetico : acqua (80 : 20 : 20; v/v/v).

Solvente II = Cloroformio : acido acetico (95 : 5; v/v).

4.18. Soluzione all'1 % (m/v) di 2,6-dicloro-4-(cloroimmino)cicloesa-2,5-dienone in etanolo (4.10).

4.19. Soluzione di sodio carbonato all'1 % (m/v).

4.20. Soluzione al 30 % (v/v) di etanolo (4.10) in acqua.

4.21. Soluzione di diidrogenoetilendiaminotetraacetato di disodio al 5 % (m/v).

4.22. ***Soluzione tampone a pH 7***

Pesare 27 g di KH_2PO_4 e 70 g di $K_2HPO_4 3H_2O$ in un matraccio tarato da 1 000 ml. Disciogliere, portare a volume e mescolare.

4.23. ***Lastre di gel di silice pronte per l'uso***

Spessore dello strato 0,25 mm (Kieselgel 60 Merck o equivalente). Prima dell'uso ogni piastra deve essere vaporizzata con 10 ml del reattivo 4.21 e essiccata a 80 °C.

5. APPARECCHIATURA

5.1. Matracci a fondo rotondo e collo smerigliato da 100 ml.

5.2. Matracci tarati.

5.3. Pipette graduate da 10 e da 5 ml.

5.4. Pipette da 20, 15, 10 e 5 ml.

5.5. Imbuti separatori da 100, 50 e 25 ml.

5.6. Filtri a pieghe di 9 cm di diametro.

5.7. Evaporatore rotante.

5.8. Refrigerante a ricadere con giunto smerigliato.

5.9. Spettrofotometro.

5.10. Vaschette da spettrofotometria da 1 cm di percorso ottico.

5.11. Agitatore con riscaldamento elettrico.

5.12. Colonne di vetro per cromatografia di 160 mm di altezza e 8 mm di diametro, la parte inferiore delle quali sia provvista di una strozzatura otturata con un tampone di lana di vetro e la parte superiore delle quali sia strutturata in modo da poter effettuare l'eluizione sotto pressione.

6. MODO DI OPERARE

6.1. ***Identificazione***

6.1.1. *Campioni liquidi*

6.1.1.1. Portare a 7 il pH di una parte del campione da analizzare ed applicarne varie aliquote da 5 e 10 µl su altrettanti punti della linea partenza di una piastra al gel di silice precedentemente trattata come indicato in 4.23.

6.1.1.2. Applicare 10 e 30 µl della soluzione di confronto (4.15.2) su altri due punti della linea di partenza e sviluppare la piastra in uno dei due solventi di sviluppo (4.17).

6.1.1.3. Quando il fronte degli eluenti ha raggiunto 15 cm, portare la piastra a secco a 110 °C (15 minuti). In luce UV (366 nm), le macchie di 8-idrossichinolina sono caratterizzate da una fluorescenza gialla.

6.1.1.4. Vaporizzare la piastra con una soluzione acquosa di carbonato di sodio all'1 % (4.19); essiccare e vaporizzare nuovamente con una soluzione di 2,6-dicloro-4-(cloroimmino)cicloesa-2,5-dienone. L'idrossi-8-chinolina è rivelata da una macchia azzurra

6.1.2. *Campioni solidi e creme*

6.1.2.1. Sospendere 1 g del campione in 5 ml della soluzione tampone a pH 7 (4.22), trasferirlo quindi con 10 ml di cloroformio (4.3) in un imbuto separatore e agitare. Dopo aver raccolto lo strato di cloroformio, estrarre a due riprese la sospensione acquosa con 10 ml di cloroformio (4.3) per volta. Raccogliere e filtrare gli estratti cloroformici e concentrarli fin quasi a secco in un matraccio a fondo rotondo da 100 ml (5.1) con un evaporatore rotante. Riprendere il residuo in 2 ml di cloroformio ed applicare 10 e 30 µl della soluzione ottenuta su una piastra di gel di silice (4.23), procedendo come indicato al punto 6.1.1.1.

6.1.2.2. Dopo aver applicato 10 e 30 µl di soluzione di confronto (4.15.2), trattare la piastra come indicato ai punti 6.1.1.2, 6.1.1.3 e 6.1.1.4.

6.2. ***Dosaggio***

6.2.1. *Campioni liquidi*

6.2.1.1. In un matraccio smerigliato a fondo rotondo da 100 ml pesare 5 g del campione. Pipettare 1 ml di acido solforico 1N (4.8). Concentrare la miscela a pressione ridotta (50 °C) fino a portarla quasi a secco.

6.2.1.2 Disciogliere il residuo in 20 ml di acqua calda; trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, lavare a tre riprese con 20 ml di acqua per volta, portare a 100 ml con acqua e mescolare.

6.2.1.3. Pipettare 5 ml di questa soluzione in un imbuto separatore da 50 ml (5.5). Aggiungere 10 ml di liquido di Fehling (4.16) ed estrarre in tre riprese ogni volta con 8 ml di cloroformio (4.3) il complesso di rame formatosi.

6.2.1.4 Raccogliere le fasi cloroformiche filtrate in un matraccio tarato da 25 ml (5.2). Portare a volume con cloroformio (4.3) e agitare; misurare la densità ottica della soluzione gialla a 410 nm rispetto al cloroformio.

6.2.2. *Campioni solidi e creme*

6.2.2.1. In un matraccio a fondo rotondo da 100 ml (5.1) pesare 0,500 g del campione, aggiungere 30 ml di benzene (4.2) e 20 ml di acido cloridrico 1N (4.7) e far bollire a ricadere il contenuto del matraccio per 30 minuti, agitando.

6.2.2.2. Trasferire il contenuto del matraccio in un imbuto separatore da 100 ml (5.5) e lavare con 5 ml di acido cloridrico 1N (4.7). Trasferire la fase acquosa in un matraccio a fondo rotondo (5.1), lavare la fase benzenica con 5 ml di acido cloridrico 1N (4.7) e raccogliere le acque di lavaggio nel pallone a fondo tondo. Proseguire come indicato al punto 6.2.2.4.

6.2.2.3. Qualora la presenza di emulsioni ostacoli il proseguimento dell'analisi, l'idrossi-8 -chinolina verrà isolata come segue: mescolare 0,500 g del campione con 2 g di celite 545 (4.14), in modo da ottenere una polvere scorrevole. Trasferire la miscela suddivisa in piccole frazioni nella colonna di vetro da cromatografia (5.12).

Ad ogni nuova aggiunta compattare il contenuto della colonna. Dopo aver trasferito nella colonna tutta la miscela campione/celite, eluirla con l'acido cloridrico 0,1N (4.13), in modo da ottenere 10 ml di eluato in 10 minuti circa; se necessario si puo procedere a questa eluizione esercitando una leggera sovrappressione con azoto. Durante l'eluizione bisogna accertarsi che la miscela contenuta nella colonna sia sempre coperta dall'acido cloridrico. Trattare i primi 10 ml di eluato come indicato al punto 6.2.2.4.

6.2.2.4. Concentrare tutte le fasi acquose (6.2.2.2 o 6.2.2.3) con l'evaporatore rotante a pressione ridotta fino a portarle quasi a secco.

6.2.2.5. Disciogliere il residuo in 6 ml di soluzione di sodio idrossido 1N (4.9), aggiungere 20 ml di liquido di Fehling (4.16) e trasferire il contenuto del matraccio in un imbuto separatore da 50 ml (5.5). Lavare il matraccio con 8 ml di cloroformio (4.3) e travasare nell'imbuto separatore. Agitare, filtrare la fase cloroformica e raccoglierla in un matraccio tarato da 50 ml (5.2).

6.2.2.6. Ripetere tre volte tale estrazione, utilizzando ogni volta 8 ml di cloroformio (4.3), filtrare le fasi cloroformiche e raccoglierle nel matraccio tarato da 50 ml. Portare a volume con cloroformio e agitare; la densità ottica della soluzione gialla viene misurata a 410 nm rispetto al cloroformio.

7. CURVA DI TARATURA

In matracci a fondo rotondo da 100 ml (5.1), contenenti ciascuno 3 ml di soluzione acquosa di alcole etilico al 30 % (4.20), pipettare rispettivamente 5, 10, 15 e 20 ml della soluzione di confronto (4.15.1) e procedere come indicato al punto 6.2.1.

8. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

8.1. *Campioni liquidi*

$$\text{Idrossi-8-chinolina in \% (m/m)} = \frac{a}{m} \times 100$$

dove :

a : mg di idrossi-8-chinolina rilevati sulla curva di taratura (7),

m (mg) : massa del campione (6.2.1.1).

8.2. ***Campioni solidi o creme***

$$\text{Idrossi-8-chinolina in \% (m/m)} = \frac{2a}{m} \times 100$$

dove :

a : mg di idrossi-8-chinolina rilevati sulla curva di taratura (7),

m (mg) : massa del campione (6.2.2.1).

9. RIPETIBILITÀ [1]

Per un tenore dell'ordine dello 0,3 % di idrossi-8-chinolina le differenze tra i risultati di due dosaggi paralleli effettuati sullo stesso campione non deve superare 0,02 %.

XIV. DOSAGGIO DELL'AMMONIACA

1. SCOPO E APPLICAZIONE

Il metodo descrive il dosaggio dell'ammoniaca libera nei prodotti cosmetici.

2. DEFINIZIONE

Il contenuto di ammoniaca nei campioni, determinato con il presente metodo, è espresso in percentuale in massa di NH_3.

3. PRINCIPIO

Si aggiunge una soluzione di cloruro di bario al prodotto cosmetico in ambiente metanolo-acqua. Questo modo di operare evita il trascinamento, durante la distillazione in corrente di vapore, di taluni sali di ammonio, quali carbonato, idrogenocarbonato, sali di acidi grassi, ecc., ad eccezione dell'acetato di ammonio.

L'ammoniaca è distillata in corrente di vapore dal filtrato o dal liquido surnatante e dosata per titrimetria indiretta con indicatore o titrimetria diretta per potenziometria.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Metanolo.

4.2. Soluzione di cloruro di bario biidràto al 25 % (m/v).

4.3. Soluzione di acido ortoborico al 4 % (m/v).

4.4. Soluzione titolata di acido solforico 0,5N.

4.5. Antischiuma liquido.

4.6. Soluzione titolata di sodio idrossido 0,5N.

4.7. Indicatore : mescolare 5 ml di una soluzione etanolica di rosso metile allo 0,1 % con 2 ml di una soluzione acquosa di blu di metilene allo 0,1 %.

---

(1) Secondo la norma ISO 5725.

5. APPARECCHIATURA

5.1. Apparecchiatura corrente di laboratorio.

5.2. Centrifuga e provette da centrifuga con chiusura.

5.3. Apparecchio per la distillazione in corrente di vapore.

5.4. Potenziografo.

5.5. Elettrodo in vetro ed elettrodo di riferimento al dicloruro di dimercurio (calomelano).

6. MODO DI OPERARE

6.1. In un pallone tarato da 100 ml, pesare con l'approssimazione di 1 mg una massa (m) del campione corrispondente al massimo a 150 mg di NH_3.

6.2. Aggiungere:

10 ml H_2O,

10 ml metanolo (4.1),

10 ml soluzione $BaCl_2$ (4.2).

Portare a 100 ml con metanolo (4.1).

6.3. Omogeneizzare e lasciare per una notte in frigorifero (5 °C).

6.4. La soluzione ancora fredda è filtrata o centrifugata in provetta chiusa per 10 minuti in maniera da ottenere un surnatante limpido.

6.5. Pipettare 40 ml della soluzione limpida nell'apparecchio (5.3), aggiungere, eventualmente, 0,5 ml di antischiuma (4.5).

6.6. Distillare e raccogliere 200 ml di distillato in becher da 250 ml, già contenente 100 ml di H_2SO_4 0,5N (4.4) e 0,1 ml dell'indicatore (4.7).

6.7. Titolare l'acido solforico in eccesso con la soluzione di sodio idrossido 0,5N (4.6).

6.8. Nel caso di dosaggio potenziometrico, raccogliere 200 ml di distillato in un becher da 250 ml contenente 25 ml della soluzione di acido ortoborico (4.3) e titolare con acido solforico 0,5N (4.4).

7. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

7.1. ***Calcolo nel caso della titolazione di ritorno in presenza di indicatore***

Siano :

V_1 (ml) : il volume dalla soluzione di NaOH 0,5N (4.6) impiegato,

T_1 : il titolo della soluzione di NaOH 0,5N (4.6),

T_2 : il titolo della soluzione di H_2SO_4 0,5N (4.4),

m (mg) : la massa del campione (6.1):

$$NH_3 \% (m/m) = \frac{(10\,T_2 - V_1 T_1) \times 17 \times 100}{0,4\,m} = \frac{(10\,T_2 - V_1 T_1) \times 4250}{m}$$

7.2. ***Calcolo nel caso di dosaggio potenziometrico diretto***

Siano :

V_2 (ml) : il volume delle soluzioni di H_2SO_4 0,5N (4.4) impiegato,

T_2 : il titolo delle soluzioni di H_2SO_4 0,5N (4.4),

m (mg) : la massa del campione (6.1).

$$NH_3 \% (m/m) = \frac{V_2 \times T_2 \times 17 \times 100}{0{,}4\ m} = \frac{V_2 \times T_2 \times 4250}{m}$$

8. RIPETIBILITÀ ([1])

Per un contenuto dell'ordine del 6 % di NH_3 la differenza fra i risultati di due dosaggi paralleli effettuati su uno stesso campione non deve superare lo 0,6 %.

XV. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DEL NITROMETANO

1. SCOPO E CAMPO D'APPLICAZIONE

Il metodo si presta all'identificazione ed al dosaggio del nitrometano fino alla concentrazione dello 0,3 % circa nei prodotti cosmetici, distribuiti in aerosol.

2. DEFINIZIONE

Il titolo del nitrometano nel campione, determinato secondo questo metodo, rappresenta la percentuale in massa nel nitrometano rispetto al contenuto totale dell'aerosol.

3. PRINCIPIO

Il nitrometano è identificato colorimetricamente. Il suo dosaggio è realizzato per cromatografia in fase gassosa dopo aggiunta di uno standard interno.

4. IDENTIFICAZIONE

4.1. ***Reattivi***

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1.1. Soluzione di idrossido di sodio 0,5N.

4.1.2. *Reattivo di Folin*

Sciogliere in acqua 0,1 g del sale sodico dell'acido 1,2-naftochinon-4-solfonico e diluire a 100 ml.

4.2. ***Modo di operare***

Ad 1 ml del campione aggiungere 10 ml del reattivo 4.1.1 ed 1 ml del reattivo 4.1.2. Una colorazione violetta indica la presenza di nitrometano.

5. DOSAGGIO

5.1. ***Reattivi***

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

([1]) Secondo la norma ISO 5725.

5.1.1. Cloroformio (standard interno 1).

5.1.2. 2,4-Dimetileptano (standard interno 2).

5.1.3. Etanolo al 95 %.

5.1.4. Nitrometano.

5.1.5. *Soluzione di riferimento del cloroformio*

Introdurre 650 mg circa di cloroformio (5.1.1) in un pallone tarato da 25 ml, previamente pesato. Ripesare accuratamente il pallone ed il suo contenuto. Portare a 25 ml con etanolo a 95 % (5.1.3). Pesare di nuovo e calcolare la percentuale in massa del cloroformio contenuto in questa soluzione.

5.1.6. *Soluzione di riferimento del dimetileptano*

Va preparato in modo analogo alla soluzione di riferimento del cloroformio. La quantità di 2,4-dimetileptano (5.1.2) da pesare nel pallone tarato da 25 ml è in questo caso di 270 mg circa.

5.2. ***Apparecchiature***

5.2.1. Gascromatografo con rivelatore a ionizzazione di fiamma.

5.2.2. Apparecchio per il campionamento di aerosol (bottiglia di trasferimento, microsiringa, raccordi, ecc.), come indicato nel capitolo II del precedente allegato I

5.2.3. Usuale vetreria di laboratorio.

5.3. ***Modo di operare***

5.3.1. *Preparazione del campione*

In una bottiglia di trasferimento da 100 ml, precedentemente tarata, dalla quale sia stata scacciata l'aria secondo il procedimento descritto al paragrafo 5.4 del capitolo II dell'allegato della direttiva 80/1335/CEE, del 22 dicembre 1980, o nella quale sia stato fatto il vuoto, introdurre 5 ml circa di una delle soluzioni degli standard interni (5.1.5 o 5.1.6). Impiegare una siringa di vetro da 10 o 20 ml senza ago, adattata al pezzo di trasferimento secondo la tecnica descritta al paragrafo 5, capitolo II, della direttiva 80/1335/CEE. Pesare di nuovo per determinare la quantità introdotta. Con la stessa tecnica trasferire in questa bottiglia 50 g circa del contenuto del campione di aerosol. Pesare nuovamente per determinare la quantità di campione trasferito e mescolare con cura. Iniettare 10 µl circa impiegando la microsiringa (5.2.2). Effettuare 5 iniezioni.

5.3.2. *Preparazione dello standard*

In un pallone tarato da 50 ml, pesare con esattezza 500 mg circa di nitrometano (5.1.4) con 500 mg di cloroformio (5.1.1) oppure 210 mg di 2,4-dimetileptano (5.1.2). Portare a volume con etanolo al 95 % (5.1.3). Mescolare con cura. Porre 5 ml di questa soluzione in un pallone tarato da 20 ml. Portare a volume con etanolo al 95 % (5.1.3). Iniettare 10 µl circa, impiegando la microsiringa (5.2.2). Effettuare 5 iniezioni.

5.3.3. *Condizioni della gascromatografia*

5.3.3.1. Colonna

La colonna è costituita di due parti: la prima contiene dodecilftalato su Gas Chrom Q come fase stazionaria, la seconda contiene Ucon 50 HB 280X su Gas Chrom Q come fase stazionaria. Il potere risolutivo R della colonna doppia così preparata deve essere uguale o superiore a 1,5. Esso è dato dall'espressione :

$$R = 2\,\frac{d'r_2 - d'r_1}{W_1 + W_2}$$

dove:

r_1 e r_2 sono i tempi di ritenzione, in minuti,

W_1 e W_2 sono le ampiezze dei picchi a metà altezza, in mm,

d' e la velocità della carta, in mm/minuto.

A titolo di esempio, le due colonne seguenti danno il potere risolutivo richiesto.

Colonna A :

Materiale : acciaio inossidabile.

Lunghezza : 1,5 m.

Diametro : 3 mm.

Riempimento : 20% di dodeciftalato su Gas Chrom Q, granulometria 100-120 mesh.

Colonna B :

Materiale : acciaio inossidabile.

Lunghezza : 1,5 m.

Diametro : 3 mm.

Riempimento : 20 % Ucon 50 HB 280X su Gas Chrom Q, granulometria 100-120 mesh.

5.3.3.2. Rivelatore

Un'adatta regolazione della sensibilità per l'elettrometro del rivelatore a ionizzazione di fiamma è 8×10^{-10}A.

5.3.3.3. Condizioni di temperatura

Sono stati trovati soddisfacenti i seguenti valori :

Iniettore : 150 °C.

Rivelatore : 150 °C

Colonne : fra 50 e 80 °C, secondo i vari apparecchi.

5.3.3.4 Condizioni relative ai gas

Gas vettore : azoto.

Pressione : 2,1 bar.

Flusso : 40 ml/min.

Alimentazione del rivelatore : secondo le indicazioni del fabbricante.

6. CALCOLI

6.1. ***Fattori di risposta del nitrometano, calcolati con riferimento allo standard interno impiegato***

Si indichi con « n » il nitrometano, e siano :

k_n : il relativo fattore di risposta,

m'_n : la relativa massa nella miscela, in g,

s'_n : l'area del relativo picco;

si indichi con « c » lo standard interno (cloroformio o 2,4-dimetileptano), e siano :

m'_c : la relativa massa nella miscela, in grammi,

s'_c : l'area del relativo picco,

si avrà :

$$k_n = \frac{m'_n}{m'_c} \times \frac{s'_c}{s'_n}$$

(k_n è una funzione dell'apparecchio).

6.2. ***Concentrazione del nitrometano nel campione***

Si indichi con « n » il nitrometano, e siano :

k_n : il relativo fattore di risposta,

s_n : l'area del relativo picco;

si indichi con « c » lo standard interno (cloroformio o 2, 4-dimetileptano), e siano :

m_c : la relativa massa nella miscela, in g,

s_c : l'area del relativo picco,

M : la massa in g dell'aerosol trasferito.

La percentuale (m/m) di nitrometano nel campione sarà :

$$\frac{m_c}{M} \times \frac{k_n \times s_n}{s_c} \times 100$$

7. RIPETIBILITÀ [1]

Per un contenuto di nitrometano dello 0,3 % (m/m) circa, la differenza fra i risultati di due determinazioni parallele, effettuate sullo stesso campione, non deve superare lo 0,03 %.

XVI. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DELL'ACIDO TIOGLICOLICO NEI PRODOTTI PER L'ARRICCIATURA E LA STIRATURA DEI CAPELLI E NEI DEPILATORI

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Questo metodo descrive l'identificazione e la determinazione dell'acido tioglicolico nei prodotti per l'arricciatura e la stiratura dei capelli e nei depilatori, in presenza di altre eventuali sostanze riducenti.

2. DEFINIZIONE

Il tenore del campione in acido tioglicolico, determinato secondo questo metodo, e espresso in percentuale di massa di acido tioglicolico.

3. PRINCIPIO

L'acido tioglicolico viene identificato sia per reazione cromatica che per cromatografia su strato sottile. Il dosaggio viene effetuato sia per iodometria che per gascromatografia.

4. IDENTIFICAZIONE

4.1. ***Identificazione per via chimica***

4.1.1. *Reattivi*

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1.1.1. Cartina reattiva al di(acetato) di piombo.

4.1.1.2. Acido cloridrico diluito 1:1.

4.1.2. *Procedimento*

4.1.2.1. Identificazione dell'acido tioglicolico per reazione cromatica con la cartina al di(acetato) di piombo

Deporre una goccia del campione in esame su una cartina reattiva al di(acetato) di piombo. Una colorazione gialla intensa denota la probabile presenza di acido tioglicolico.

Sensibilità : 0,5 %.

4.1.2.2. Caratterizzazione dei solfuri per formazione di H_2S

Introdurre in un tubo da saggio qualche mg del campione in esame. Aggiungere 2 ml di acqua deionizzata ed 1 ml di acido cloridrico diluito 1:1 (4.1.1.2). Si

[1] Secondo la norma ISO 5725.

sviluppa H_2S, riconoscibile dall'odore caratteristico e dalla formazione di un precipitato nero di PbS su una cartina reattiva al di(acetato) di piombo (4.1.1.1).

Sensibilità : 50 ppm.

4.1.2.3. Caratterizzazione dei solfiti per formazione di SO_2

Procedere come al punto 4.1.2.2. Portare ad ebollizione. L'SO_2 si riconosce dall'odore e dalle proprietà riducenti, ad esempio nei confronti di MnO_4^-.

4.2. ***Identificazione per cromatografia su strato sottile***

4.2.1. ***Reattivi***

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.2.1.1. Acido tioglicolico controllato per via iodometrica : purezza $\geq$ 98 % (ATG).

4.2.1.2. Acido ditiodiglicolico : purezza $\geq$ 99 % (ADTG).

4.2.1.3. Acido tiolattico : purezza $\geq$ 95 % (ATL).

4.2.1.4. Acido 3-mercaptopropionico : purezza $\geq$ 98 % (AMP).

4.2.1.5. 1-Tioglicerolo : purezza $\geq$ 98 % (TG).

4.2.1.6. Gel di silice G-HR o lastrina equivalente, pronta per l'impiego, con spessore dello strato di 0,25 mm, attivata a 110 °C circa per circa 30 minuti.

4.2.1.7. Ossido di alluminio F 254 tipo E Merck o equivalente o lastrina equivalente pronta per l'impiego, con spessore dello strato di 0,25 mm, attivata a 110 °C per circa 30 minuti.

4.2.1.8. Acido cloridrico concentrato (d_4^{20} = 1,19).

4.2.1.9. Acetato di etile.

4.2.1.10. Cloroformio.

4.2.1.11. Etere diisopropilico

4.2.1.12. Tetracloruro di carbonio.

4.2.1.13. Acido acetico glaciale.

4.2.1.14. Soluzione acquosa di ioduro di potassio all'1 % (m/v).

4.2.1.15. Soluzione acquosa di cloruro di platino allo 0,1 % (m/v).

4.2.1.16. Solventi per lo sviluppo

4.2.1.16.1. Acetato di etile, cloroformio, etere diisopropilico, acido acetico concentrato (20:20:10:10) (in volume).

4.2.1.16.2. Cloroformio, acido acetico glaciale (90:20) (in volume).

4.2.1.17. Reattivi di rivelazione

4.2.1.17.1. Immediatamente prima dell'impiego, mescolare volumi uguali della soluzione 4.2.1.14 e della soluzione 4.2.1.15.

4.2.1.17.2. Soluzione di bromo al 5 % (m/v) :

Sciogliere 5 g di bromo in 100 ml di tetracloruro di carbonio (4.2.1.12).

4.2.1.17.3. Soluzione di fluorescina 0,1 % (m/v) :

Sciogliere 100 mg di fluorescina in 10 ml di etanolo al 95 %.

4.2.1.17.4. Soluzione acquosa al 10 % (m/v) di eptamolibdato di esaammonio.

4.2.1.18. Soluzioni di riferimento

4.2.1.18.1. Soluzione acquosa di acido tioglicolico allo 0,4 % (m/v).

4.2.1.18.2. Soluzione acquosa di acido ditiodiglicolico allo 0,4 % (m/v).

4.2.1.18.4. Soluzione acquosa acido 3-mercaptopropionico allo 0,4 % (m/v).

4.2.1.18.5. Soluzione acquosa di 1-tioglicerolo allo 0,4 % (m/v).

4.2.2. *Apparecchiatura*

Materiale corrente di laboratorio per cromatografia su strato sottile.

4.2.3. *Procedimento*

4.2.3.1. Trattamento dei campioni

Con qualche goccia di acido cloridrico (4.2.1.8) acidificare fino a pH1 e filtrare (se necessario). In taluni casi, può essere necessario diluire il campione : in questo caso acidificarlo con acido cloridico (4.2.1.8) prima di effettuare la diluizione.

4.2.3.2. Sviluppo

Depositare sulla lastrina 1 µl della soluzione campione 4.2.3.1 e 1 µl di ciascuna delle cinque soluzioni di riferimento (4.2.1.18). Asciugare con cautela le deposizioni con una corrente di azoto e sviluppare la lastrina con i solventi di sviluppo 4.2.1.16.1 o 4.2.1.16.2. Essiccare quindi la lastrina il più rapidamente possibile in corrente di azoto in modo da evitare l'ossidazione dei tioli.

4.2.3.3. Rivelazione

Spruzzare la lastrina con il reattivo 4.2.1.17.1 o 4.2.1.17.3 o 4.2.1.17.4. Se la lastrina è stata spruzzata con il reattivo 4.2.1.17.3, porla in una vaschetta di sviluppo saturata con vapori di bromo (4.2.1.17.2) finché le macchie non siano visibili. La rivelazione con il reattivo 4.2.1.17.4 è valida soltanto se il tempo di essiccazione della lastrina non ha superato mezz'ora.

4.2.3.4. Lettura

Confrontare i valori degli Rf e il colore delle soluzioni di riferimento con quelli della soluzione campione. Gli Rf medi su strato di gel silice riportati qui di seguito sono dati a titolo indicativo ed hanno soltanto un valore comparativo. In pratica essi dipendono :

— dall'attivazione dello strato al momento della cromatografia,

— dalla temperatura della vaschetta cromatografica.

Tabella degli Rf ottenuti su strato di silice

	Solventi di sviluppo	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Acido tioglicolico	0,25	0,80
Acido tiolattico	0,40	0,95
Acido ditiodiglicolico	0,00	0,35
Acido 3-mercaptopropionico	0,45	0,95
1-tioglicerolo	0,45	0,35

5. DOSAGGIO (*)

Il primo dosaggdo da effettuare è quello iodometrico.

5.1. ***Iodometria***

5.1.1. *Principio*

Il dosaggio si effettua ossidando il gruppo SH con I_2 in ambiente acido. L'equazione di reazione è la seguente :

$$2\ HOOC{-}CH_2SH + I_2 \rightarrow (HOOC{-}CH_2{-}S)_2 + 2\ I^- + 2\ H^+$$

5.1.2. *Reattivi*

Soluzione titolata di iodio 0,1 N.

(*) *NB* : Il dosaggio dell'acido tioglicolico deve essere effettuato su prodotti non ancora utilizzati, prelevati da contenitori aperti di recente, in modo da evitare qualsiasi ossidazione.

5.1.3. ***Materiale***

Materiale comune di laboratorio.

5.1.4. ***Procedimento***

In una beuta tappata da 150 ml, contenente 50 ml di acqua distillata, pesare esattamente una quantità compresa tra 0,500-1,000 g del campione. Aggiungere 5 ml di HCl 1:1 (4.1.1.2) (pH della soluzione 0) e titolare con la soluzione di iodio 0,1 N (5.1.2) fino a colorazione gialla. Si può usare un indicatore (salda d'amido, cloroformio).

5.1.5. *Calcolo*

Il tenore in acido tioglicolico è calcolato secondo la formula:

$$\% \ (m/m) = \frac{92 \cdot n \cdot 100}{1000 \cdot 10 \cdot m} = \frac{0{,}92\, n}{m}$$

dove:

m è la massa in g dell'aliquota prelevata;

n è il volume in ml di soluzione di iodio 0,1 N (5.1.2) consumato.

5.1.6. *Osservazioni*

Se il risultato, calcolato in acido tioglicolico, è inferiore dello 0,1 % alle concentrazioni massime autorizzate non occorre procedere ad altri saggi. Se il risultato è uguale o superiore alle concentrazioni massime autorizzate e se l'identificazione ha evidenziato la presenza di altre sostanze riducenti, è invece necessario procedere al dosaggio per gascromatografia.

5.2. ***Gascromatografia***

5.2.1. ***Principio***

L'acido tioglicolico viene separato dall'eccipiente per precipitazione sotto forma di di(acetato) di cadmio.

L'acido tioglicolico viene metilato con diazometano, che può essere preparato estemporaneamente, o essere già pronto in soluzione eterea. Il derivato metilato che si ottiene viene dosato per gascromatografia impiegando caprilato di metile come standard interno.

5.2.2. ***Reattivi***

Tutti i reattivi debbono essere di purezza analitica.

5.2.2.1. Acido tioglicolico di titolo noto.

5.2.2.2. Acido cloridrico concentrato $d_4^{20} = 1{,}19$.

5.2.2.3. Metanolo.

5.2.2.4. Soluzione acquosa di di(acetato) di cadmio biidrato al 10 % (m/v).

5.2.2.5. Soluzione metanolica di caprilato di metile al 2 % (m/v).

5.2.2.6. Soluzione tampone acetica pH 5:

acetato di sodio triidato:	77 g,
acido acetico glaciale:	27,5 ml,
acqua demineralizzata q.b.a.:	1 l.

5.2.2.7. Soluzione metanolica 3 N di acido cloridrico preparata di recente.

5.2.2.8. N-metil-N nitroso-N'-nitroguanidina.

5.2.2.9. Soluzione di idrossido di sodio 5 N.

5.2.2.10. Soluzione titolata di iodio 0,1 N.

5.2.2.11. Etere etilico.

5.2.2.12. Soluzione di diazometano preparata a partire dalla N-metil-N-nitroso-p. toluensolfanammide secondo Fieser (Reagents for organic synthesis, Ed. Wiley 1967)

La soluzione contiene 1,5 g circa di diazometano in 100 ml di etere etilico (5.2.2.11). Il diazometano è un gas tossico e molto instabile; pertanto, e necessario effettuare tutti gli esperimenti sotto una cappa potente ed evitare l'impiego di apparecchi con giunti smerigliati.

5.2.3. *Materiale*

5.2.3.1. Materiale corrente di laboratorio.

5.2.3.2. Apparecchio per la preparazione estemporanea del diazometano (An. Chem. *45*, 1973, 2302).

5.2.3.3. Apparecchio per la preparazione preliminare del diazometano secondo Fieser.

5.2.4. *Preparazione del campione*

In un tubo da centrifuga da 50 ml, pesare con precisione una massa di campione tale che la quantità presunta di acido tioglicolico sia dell'ordine di 50-70 mg. Con qualche goccia di acido cloridrico concentrato (5.2.2.2), portare a pH 3 circa.

Aggiungere : 5 ml di acqua demineralizzata,
10 ml di soluzione tampone acetica (5.2.2.6).

Verificare con cartine indicatrici che il pH sia prossimo a 5. Poi aggiungere 5 ml di soluzione di di(acetato) di cadmio (5.2.2.4).

Attendere 10 minuti e centrifugare per almeno 15 minuti a 4 000 g. Separare il surnatante. Quest'ultimo può contenere una sostanza insolubile grassa (caso di una crema), la quale peraltro non può essere confusa con il mercapturo di cadmio, riunito in modo compatto sul fondo del tubo.

Verificare se la precipitazione è completa aggiungendo nel surnatante qualche goccia di soluzione di acetato di cadmio (5.2.2.4). Qualora le precedenti identificazioni abbiano dimostrato l'assenza di sostanze riducenti diverse dai tioli verificare per via iodometrica che la presenza di tioli nel surnatante non superi il 6-8 % della quantità iniziale.

Nel tubo da centrifuga contenente il precipitato, introdurre 10 ml di metanolo (5.2.2.3), disperdere finemente il precipitato mediante una bacchetta e centrifugare di nuovo per almeno 15 minuti a 4 000 g. Decantare il surnatante e verificare per via iodometrica l'assenza di tioli.

Effettuare un secondo lavaggio nelle stesse condizioni.

Sempre nel tubo da centrifuga, aggiungere :

— 2 ml si soluzione di caprilato di metile (5.2.2.5),
— 5 ml di soluzione di HCl in metanolo (5.2.2.7).

Sciogliere completamente il mercapturo (può eventualmente sussistere una leggera quantità di sostanza insolubile proveniente dall'eccipiente).

Si ottiene la soluzione S.

Su una aliquota di tale soluzione verificare iodometricamente il contenuto in tioli; esso deve risultare uguale almeno al 90 % di quello ottenuto in precedenza (5.1).

5.2.5. *Metilazione*

La metilazione viene effettuata sia estemporaneamente secondo il metodo descritto nel punto 5.2.5.1, sia con una soluzione di diazometano precedentemente preparata (5.2.5.2).

5.2.5.1. Metilazione estemporanea

Nell'apparecchio (5.2.3.2) contenente 1 ml di etere etilico (5.2.2.11) introdurre 50 µl della soluzione S. Metilare secondo il metodo (5.2.3.2) con 300 mg circa di

N-metil-N-nitroso-N'-nitroguandina (5.2.2.8). Dopo 15 minuti verificare che la soluzione eterea contenga un eccesso di diazometano (soluzione gialla) e travasare in un palloncino da 2 ml, chiuderlo ermeticamente e porlo in frigorifero per una notte. Effettuare contemporaneamente 2 metilazioni.

5.2.5.2. Metilazione con la soluzione di diazometano preparata in precedenza

In un pallone tappato da 5 ml, introdurre 1 ml di diazometano (5.2.2.12), poi 50 µl della soluzione S. Lasciare in frigorifero per una notte.

5.2.6. *Preparazione dello standard*

Preparare una soluzione standard di acido tioglicolico di titolo noto contenente circa 60 mg di acido tioglicolico in un volume di 2 ml.

Si ottiene la soluzione E.

Procedere alla precipitazione, ai dosaggi ed alla metilazione come indicato ai punti 5.2.4 e 5.2.5.

5.2.7. *Condizioni della gascromatografia*

5.2.7.1. Colonna

Materiale : acciaio inossidabile.
Lunghezza : 2 m.
Diametro : 3 mm.

5.2.7.2. Riempimento

Ftalato di dodecile al 20 % su Chrom. WAW 80-100 mesh.

5.2.7.3. Rivelatore

A ionizzazione di fiamma.

È opportuno che l'elettrometro del rivelatore a ionizzazione di fiamma sia fissato su una sensibilità di $8 \cdot 10^{-10}$A.

5.2.7.4. Gas :

gas vettore : azoto : pressione 2,2 bar,
flusso 35 ml/minuto;

gas ausiliario : idrogeno : pressione 1,8 bar,
flusso 15 ml/minuto.

Alimentazione del rivelatore : secondo le indicazioni del fabbricante dell'apparecchio.

5.2.7.5. Temperatura :

iniettore : 200 °C,
rivelatore : 200 °C,
colonna : 90 °C.

5.2.7.6. Registratore :

velocità della carta : 5 mm/minuto.

5.2.7.7. Quantità iniettata : 3 µl.

Effettuare 5 prove su ciascun campione metilato.

5.2.7.8. Le condizioni cromatografiche sono riportate a titolo indicativo e permettono di ottenere la risoluzione R > 1,5 :

$$R = 2 \frac{d'r_2 - d'r_1}{W_1 + W_2}$$

dove :

r_1 ed r_2 sono tempi di ritenzione, in minuti,

W_1 e W_2 sono le ampiezze dei picchi a metà altezza, in mm,

d' è la velocità della carta in mm/minuto.

Si consiglia di terminare la cromotografia con una programmazione di temperatura da 90 a 150 °C (10 °C/minuto) per eliminare le sostanze capaci di inferire durante le successive analisi.

5.2.8. *Calcoli*

5.2.8.1. Coefficiente di proporzionalità dell'acido tioglicolico

Esso viene calcolato rispetto all'ottanoato di metile partendo dalla miscela standard.

Siano :

t : acido tioglicolico,

k_t : suo coefficiente di proporzionalità,

m'_t : sua massa (in mg) nella miscela,

S'_t : superficie del suo picco,

c : caprilato di metile,

m'_c : sua massa (in mg) nella miscela,

S'_c : superficie del suo picco.

$$k_t = \frac{m'_t}{m'_c} \cdot \frac{S'_c}{S'_t}$$

Questo coefficiente è funzione dell'apparecchiatura.

5.2.8.2. Concentrazione dell'acido tioglicolico nel campione

Siano :

t : acido tioglicolico,

k_t : suo coefficiente di proporzionalità,

S_t : superficie del suo picco,

c : caprilato di metile,

m_c : sua massa (in mg) nella miscela,

S_c : superficie del suo picco,

M : massa (in mg) della miscela iniziale,

allora la percentuale (m/m) di acido tioglicolico nel campione è uguale a :

$$\frac{m_c}{M} \cdot \frac{k_t \cdot S_t}{S_c} \cdot 100$$

6. RIPETIBILITÀ [1]

Per un contenuto di acido tioglicolico dell'8 % (m/m) la differenza tra i risultati di 2 dosaggi paralleli, effettuati sullo stesso campione, non deve superare lo 0,8 %.

XVII. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DELL'ESACLOROFENE

A. IDENTIFICAZIONE

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo qui di seguito descritto è applicabile a tutti i prodotti cosmetici.

2. PRINCIPIO

L'esaclorofene contenuto nel campione viene estratto con acetato di etile ed identificato per cromatografia su strato sottile.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

3.1. Acido solforico 8N.

3.2. Celite AW.

3.3. Acetato di etile.

[1] Secondo la norma ISO 5725.

3.4. Solvente di sviluppo :

Benzene contenente l'1 % (v/v) di acido acetico glaciale.

3.5. Agente rivelatore I :

Soluzione di rodamina B : solubilizzare 100 mg di rodamina B in una miscela costituita da 150 ml di etere etilico, 70 ml di alcol etilico assoluto e 16 ml di acqua.

3.6. Agente rivelatore II :

Soluzioni di 2,6-dibromo-4-(cloroimmino)cicloesa-2,5-dienone : solubilizzare 400 mg di 2,6-dibromo-4-(cloroimmino)cicloesa-2,5-dienone in 100 ml di metanolo. Tale soluzione va preparata giornalmente.

Soluzione di carbonato sodico : solubilizzare 10 g di sodio carbonato in 100 ml di acqua distillata.

3.7. Soluzione di riferimento :

Preparare una soluzione di esaclorofene allo 0,05 % (m/v) in acetato di etile (3.3).

4. APPARECCHIATURE

4.1. Lastrine di gel di silice con indicatore di fluorescenza, di 0,25 mm di spessore.

4.2. Materiale comune per cromatografia su strato sottile.

4.3. Bagno termostatico capace di contenere una vaschetta cromatografica alla temperatura di 26 °C.

5. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

5.1. Mescolare accuratamente 1 g di campione omogeneizzato con 1 g di celite AW (3.2) ed 1 ml di acido solforico (3.1).

5.2. Essiccare a 100 °C per 2 ore.

5.3. Il residuo secco così ottenuto viene raffreddato e finemente polverizzato.

5.4. Estrarre tale polvere per due volte con 10 ml di etile acetato (3.3), centrifugare dopo ogni estrazione e riunire le soluzioni di acetato di etile (3.3).

5.5. Evaporare a 60 °C.

5.6. Riprendere il residuo che si ottiene con 2 ml di acetato di etile (3.3).

6. MODALITÀ OPERATIVE

6.1. Depositare, su una lastrina per cromatografia (4.1), 2 µl della soluzione del campione in esame (5.6) e 2 µl della soluzione di riferimento (3.7).

6.2. Saturare la vaschetta di sviluppo, termostatata a 26 °C, con la miscela di sviluppo (3.4).

6.3. Porre la lastrina nella vaschetta e svilupparla per 15 cm con cromatografia ascendente.

6.4. Togliere la lastrina ed essiccarla in una stufa alla temperatura di 105 °C.

6.5. *Rivelazione*

Le macchie corrispondenti all'esaclorofene sulla lastrina sono evidenziate come indicato al punto 6.5.1 o in alternativa al punto 6.5.2.

6.5.1. Spruzzare l'agente rivelatore I (3.5) sulla lastrina. Dopo 30 minuti esaminare la lastrina sotto la luce di 254 nm di lunghezza d'onda di una lampada UV.

6.5.2. Spruzzare prima la soluzione di 2,6-dibromo-4-(cloroimmino)cicloesa-2,5-dienone (agente rivelatore II) e poi la soluzione di sodio carbonato (3.6). Esaminare la lastrina, dopo averla asciugata per 10 minuti a temperatura ambiente, alla luce del giorno.

7. INTERPRETAZIONE DEI RISULATI

7.1. Agente rivelatore I (3.5):

L'esaclorofene si evidenzia come una macchia bluastra su di uno sfondo fluorescente giallo aranciato con un Rf pari a circa 0,5.

7.2. Agente rivelatore II (3.6):

L'esaclorofene si evidenzia come una macchia azzurra su sfondo bianco con un Rf pari a circa 0,5.

B. DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il presente metodo è applicabile a tutti i prodotti cosmetici.

2. DEFINIZIONE

La quantità di esaclorofene, presente nel campione, determinata secondo questo metodo è espressa in percentuale di massa di esaclorofene.

3. PRINCIPIO

L'esaclorofene, trasformato in metil derivato, viene dosato per gascromatografia usando un detector a cattura di elettroni. Si adotta il metodo dello standard interno.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Acetato di etile.

4.2. N-metil-N-nitroso-p-toluensolfonamide (diazald).

4.3. Etere etilico.

4.4. Metanolo.

4.5. 2-2(-Etossietossi)etanolo (carbitolo).

4.6. Acido formico.

4.7. Soluzione acquosa di idrossido di potassio al 50% (m/m), preparata giornalmente.

4.8. Esano per spettroscopia.

4.9. Bromoclorofene (standard n. 1).

4.10. 4,4',6,6'-tetracloro-2,2'-tiodifenolo (standard n. 2).

4.11. Etere 2,4,4'-tricloro-2-idrossidifenilico (standard n. 3).

4.12. Acetone.

4.13. Acido solforico 8 N.

4.14. Celite AW.

4.15. Soluzione in etile acetato di acido formico al 10 % (v/v).

4.16. Esaclorofene.

5. APPARECCHIATURE

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio.

5.2. Miniapparecchio per la preparazione del diazometano (Anal. Chem. *45*, 2302-3, 1973).

5.3. Gascromatografo con rivelatore a cattura di elettroni (63 Ni).

6. MODALITÀ OPERATIVE

6.1. ***Preparazione delle soluzioni di riferimento***

La sostanza standard, scelta come riferimento, deve essere tale da non interferire con nessun eccipiente del prodotto da analizzare. Normalmente lo standard n. 1 (4.9) è il più adatto.

6.1.1. Pesare accuratamente circa 50 mg di standard n. 1 (4.9) o n. 2 (4.10) o n. 3 (4.11) e 50 mg di esaclorofene (4.16) in un matraccio tarato da 100 ml. Portare a volume con acetato di etile (4.1) (soluzione A). Diluire in un matraccio tarato da 100 ml 10 ml di soluzione A a 100 ml con acetato di etile (4.1) (soluzione B).

6.1.2. Pesare accuratamente circa 50 mg di standard n. 1 (4.9) o n. 2 (4.10) o n. 3 (4.11) in un matraccio tarato da 100 ml. Portare a volume con acetato di etile (4.1) (soluzione C).

6.2. ***Preparazione del campione*** [1]

Pesare accuratamente 1 g di campione omogeneizzato e mescolarlo con 1 ml di acido solforico (4.13), 15 ml di acetone (4.12) e 8 g di celite AW (4.14). La sospensione risultante viene essiccata dapprima mediante un trattamento di 30 minuti su un bagnomaria bollente e poi lasciandola per 90 minuti in una stufa ventilata. Raffreddare il residuo finemente polverizzato e trasferirlo in una colonnina di vetro per cromatografia. Eluire con acetato di etile (4.1) e raccoglierne 100 ml. Aggiungere 2 ml di soluzione di standard interno (soluzione C) (6.1.2).

---

[1] Data la varietà di prodotti nei quali è contenuto l'esaclorofene, è importante come prima cosa verificare il recupero che si ottiene, usando questo metodo, dell'esaclorofene dal campione in esame. Se il recupero è basso, bisogna introdurre alcune modificazioni, ad esempio si può cambiare il solvente (benzene invece di acetato di etile), ecc. Tali modifiche possono essere introdotte previo accordo delle parti interessate.

6.3. *Metilazione del campione*

Raffreddare sia i reattivi che le apparecchiature ad una temperatura compresa tra 0 °C e 4 °C per 2 ore. Nel compartimento esterno dell'apparecchio per la preparazione del diazometano porre 1,2 ml della soluzione ottenuta in 6.2 e 0,1 ml di metanolo (4.4). Nel serbatoio centrale solubilizzare circa 200 mg di diazald (4.2) con 1 ml di carbitolo (4.5) ed 1 ml di etere etilico (4.3). Collegare le varie parti dell'apparecchio, immergere quest'ultimo per metà in un bagno termostatico a 0 °C, ed introdurre nel serbatoio centrale, mediante una siringa, circa 1 ml di soluzione di idrossido di potassio (4.7) preraffreddato. Si deve ottenere un colore giallo persistente.

Se il colore giallo non è persistente, ripetere la metilazione con ulteriori 200 mg di diazald (4.2) ([1]).

Dopo 15 minuti togliere l'apparecchio dal bagno termostatico e lasciarlo chiuso a temperatura ambiente per 12 ore. Successivamente aprire l'apparecchio, eliminare l'eccesso di diazometano aggiungendo qualche goccia di soluzione di acido formico in acetato di etile (4.15) e trasferire la soluzione organica in un matraccio tarato da 25 ml. Portare a volume con esano (4.8).

Iniettare 1,5 µl di questa soluzione nel gascromatografo.

6.4. *Metilazione della soluzione standard*

Raffreddare tutti i reattivi e l'apparecchiatura ad una temperatura compresa tra 0 °C e 4 °C per 2 ore. Nel compartimento esterno dell'apparecchio per la produzione del diazometano introdurre:

0,2 ml di soluzione B (6.1.1),

1,0 ml di acetato di etile (4.1),

0,1 ml di metanolo (4.4).

Continuare la metilazione come descritto al punto 6.3.

Iniettare 1,5 µl della soluzione risultante nel gascromatografo.

7. GASCROMATOGRAFIA

La fase stazionaria contenuta nella colonna deve dare un fattore di risoluzione R uguale o superiore a 1,5.

$$R = 2\frac{d'r_2 - d'r_1}{W_1 + W_2}$$

dove:

r_1 e r_2: tempi di ritenzione espressi in minuti di due sostanze,
W_1 e W_2: ampiezza degli stessi picchi misurata a metà altezza ed espressa in mm,
d: velocità di scorrimento della carta del registratore espressa in mm/min.

Le condizioni operative sotto descritte, date come esempio, consentono di ottenere i risultati voluti:

Materiale della colonna:	acciaio inossidabile
Lunghezza:	170 cm
Diametro:	3 mm
Supporto:	
chromosorb:	WAW
granulometria:	80-100 mesh
Fase stazionaria:	OV-17 al 10 %
Temperature:	
colonna:	280 °C
iniettore:	280 °C
rivelatore:	280 °C
Gas vettore:	azoto esente da ossigeno
flusso dell'azoto:	30 ml/min
pressione di entrata dell'azoto.	2,3 bar

([1]) La persistenza del colore giallo indica la presenza di un eccesso di diazometano indispensabile per assicurare una completa metilazione.

8. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

8.1. *Calcolo del coefficiente di proporzionalità dell'esaclorofene*

Il calcolo viene effettuato nei confronti dello standard prescelto in relazione alla miscela standard.

Siano :

h : l'esaclorofene,

K_h : il suo coefficiente di proporzionalità,

m'_h : la sua massa nella miscela espressa in g,

A'_h : l'area del suo picco,

s : lo standard,

m'_s : la sua massa nella miscela espressa in g,

A'_s : l'area del suo picco,

allora

$$K_h = \frac{m'_h \times A'_s}{m'_s \times A'_h}$$

8.2. *Calcolo per determinare la quantità di esaclorofene presente nel campione*

Siano :

h : l'esaclorofene,

K_h : il suo coefficiente di proporzionalità,

A_h : l'area del suo picco,

s : lo standard scelto,

m_s : la sua massa nella miscela espressa in g,

A_s : l'area del suo picco,

M : la massa del campione prelevato espessa in g,

allora la percentuale in massa di esaclorofene nel campione sarà data da :

$$\frac{m_s \times K_h \times A_h \times 100}{M \times A_s}$$

9. RIPETIBILITÀ (1)

Per un contenuto di esaclorofene dello 0,1 % (m/m) la differenza fra i risultati di due determinazioni parallele effettuate sullo stesso campione non deve superare 0,005 % in valore assoluto.

XVIII. DOSAGGIO DEL TOSYLCHLORAMIDUM NATRICUM (CLORAMINA T)

1. CAMPO D'APPLICAZIONE

Il metodo, qui di seguito descritto, riporta la determinazione della p-toluensolfoncloranmide sodica (cloramina T) per mezzo della cromatografia su strato sottile, nei prodotti cosmetici.

(1) Secondo la norma ISO 5725.

2. DEFINIZIONE

Il tenore del campione in cloramina T, determinato col presente metodo, viene espresso come percentuale di massa (m/m).

3. PRINCIPIO

La cloramina T viene idrolizzata quantitativamente a p-toluensolfonammide, mediante ebollizione con acido cloridrico. La quantità di p-toluensolfonammide è determinata fotodensitometricamente dopo cromatografia su strato sottile.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di qualità analitica.

4.1. p-Toluensolfoncloroammide sodica (cloramina T).

4.2. Soluzione di riferimento di p-toluensolfonammide: solubilizzare 50 mg di p-toluensolfonammide in 100 ml di etanolo (4.5).

4.3. Acido cloridrico concentrato 37 % (m/m) d_4^{20} = 1,18.

4.4. Etere etilico.

4.5. Etanolo 96 % (v/v).

4.6. Miscele solventi di sviluppo per cromatografia su strato sottile:

4.6.1. n-Butanolo/etanolo (4.5)/acqua (40:4:9; v/v/v) o

4.6.2. Cloroformio/Acetone (6:4; v/v).

4.7. Lastrine pronte per cromatografia su strato sottile al gel di silice senza indicatore di fluorescenza.

4.8. Potassio permanganato.

4.9. Acido cloridrico al 15 % (m/m).

4.10. Reattivo spray di colorazione: soluzione all'1 % (m/v) di o-toluidina in etanolo (4.5).

5. ATTREZZATURA

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio.

5.2. Attrezzatura per cromatografia su strato sottile.

5.3. Fotodensitometro.

6. PROCEDIMENTO

6.1. *Idrolisi*

In un pallone da 50 ml si pesa esattamente circa 1 g (m) di campione, aggiungendo poi 5 ml d'acqua distillata e 5 ml di acido cloridrico (4.3), facendo poi bollire a ricadere per un'ora. La sospensione ancora calda si trasferisce immediatamente con acqua in un pallone tarato da 50 ml. Si raffredda e si porta a volume con acqua. Successivamente si centrifuga per almeno 5 minuti a 3 000 giri al minuto e si filtra il surnatante.

6.2. *Estrazione*

6.2.1. Si prelevano 30 ml del filtrato e si estraggono per 3 volte con porzioni di 15 ml di etere etilico (4.4). Gli estratti eterei, se necessario disidratati, vengono raccolti in un pallone tarato da 50 ml e portati a volume con etere etilico (4.4).

6.2.2. Si prelevano 25 ml dell'estratto etereo e si essiccano in corrente di azoto. Il residuo è ripreso con 1 ml di etanolo (4.5).

6.3. *Cromatografia su strato sottile*

6.3.1. Si depositano in modo puntiforme 20 µl del residuo disciolto in etanolo (6.2) su di una lastrina di gel di silice (4.7).

Nello stesso modo si depositano 8, 12, 16 e 20 µl della soluzione di riferimento di p-toluensolfonammide (4.2).

6.3.2. Si lascia poi sviluppare la lastrina per 15 cm circa nel solvente di sviluppo (4.6.1 o 4.6.2).

6.3.3. Dopo evaporazione totale del solvente (20 minuti in stufa a 110 °C) si immerge la lastrina per 2 o 3 minuti in una atmosfera di vapori di cloro, ottenuta versando circa 100 ml di soluzione di acido cloridrico (4.9) su circa 2 g di potassio permanganato (4.8) in un recipiente ermeticamente chiuso. L'eccesso di cloro si allontana dalla lastrina scaldandola a 100 °C per 5 minuti. Successivamente la lastrina viene spruzzata con il reattivo (4.10).

6.4. *Misura*

Dopo circa un'ora, si misura densitometricamente l'intensità di colorazione delle macchie viola ottenute alla lunghezza d'onda di 525 nm.

6.5. *Costruzione della retta di taratura*

Tracciare la retta di taratura mettendo in relazione le quantità di p-toluensolfonammide depositate (4, 6, 8, 10 µg) e le rispettive altezze dei picchi ottenuti.

7. OSSERVAZIONI

Il metodo può essere controllato sottoponendo al medesimo trattamento del campione in esame (6) soluzioni allo 0,1 % e 0,2 % (m/m) di cloramina T (4.1).

8. CALCOLO

Il tenore del campione in cloramina T, espresso come percentuale di massa, si ricava con la seguente formula :

$$\% \text{ (m/m) di cloramina T} = \frac{1{,}33 \times a}{60 \times m}$$

dove:

1,33 : fattore di conversione p-toluensolfonammide/cloramina T,
a : quantità espressa in µg di p-toluensolfonammide nel campione in esame letta sulla curva di taratura,
m : massa del campione espressa in g.

9. RIPETIBILITÀ (1)

Per un contenuto di cloramina T dell'ordine dello 0,2 % (m/m) la differenza fra i risultati di due determinazioni parallele effettuate sullo stesso campione non deve superare lo 0,03 %.

XIX. DOSAGGIO DEI COMPOSTI FLUORURATI NEI DENTIFRICI

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo si applica alla determinazione del fluoro totale nei dentifrici ed è adatto per quantità che non superino lo 0,25 % in massa.

2. DEFINIZIONE

Il contenuto in fluoro del campione determinato secondo questo metodo si esprime in percentuale di massa.

3. PRINCIPIO

Il fluoro presente come composto fluorurato viene trasformato in trietilfluorosilano (TEFS) per reazione diretta con trietilclorosilano (TECS) in ambiente acido ed estratto simultaneamente con xilene contenente cicloesano come standard interno.

La soluzione ottenuta è analizzata gascromatograficamente.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

4.1. Fluoruro di sodio, essiccato in stufa fino a peso costante alla temperatura di 120 °C.

4.2. Acqua bidistillata o di qualità equivalente.

4.3. Acido cloridrico concentrato $d_4^{20} = 1,19$.

4.4. Cicloesano (C_6H_{12}).

4.5. Xilene, che non mostri sul cromatogramma picchi prima di quello del solvente quando venga cromatografato nelle stesse condizioni dei campioni (6.1).

In caso di necessità lo xilene va purificato per distillazione (5.8).

(1) Secondo la norma ISO 5725.

4.6. Trietilclorosilano (TECS Merck o equivalente).

4.7. ***Soluzioni standard di sodio fluoruro***

4.7.1. Soluzione standard concentrata (concentrazione 0,250 mg F^-/ml). Pesare esattamente 138,1 mg di fluoruro di sodio (4.1) e solubilizzarli con acqua (4.2). Trasferire quantitativamente tale soluzione in un matraccio tarato da 250 ml (5.5), portare a volume con acqua (4.2) ed agitare.

4.7.2. Soluzione standard diluita (concentrazione 0,050 mg F^-/ml) :

Prelevare esattamente 20 ml della soluzione standard concentrata (4.7.1) e portarli in un matraccio tarato da 100 ml (5.5), portare a volume con acqua (4.2) ed agitare.

4.8. ***Soluzione di cicloesano (standard interno)***

Diluire 1 ml di cicloesano (4.4) con 5 ml di xilene (4.5).

4.9. ***Soluzione di trietilclorosilano e di standard interno***

Pipettare (5.7) 0,6 ml di trietilclorosilano (4.6) e 0,12 ml della soluzione di standard interno (4.8) in un matraccio tarato da 10 ml. Portare a volume con xilene (4.5) ed agitare. Tale soluzione va preparata quotidianamente.

4.10. Acido perclorico 70 % (m/v).

4.11. Acido perclorico 20 % (m/v) in acqua (4.2).

5. APPARECCHIATURA

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio e di gascromatografia.

5.2. Gascromatografo provvisto di rivelatore a ionizzazione di fiamma.

5.3. Omogeneizzatore Vortex o equivalente.

5.4. Agitatore tipo Bühler SMB1 o equivalente.

5.5. Matracci tarati da 100 e 250 ml in polipropilene.

5.6. Provette da centrifuga in vetro, da 20 ml di volume, con tappi a vite rivestiti in teflon. Provette Sovirel tipo 611-56 o equivalenti. Tali provette e relativi tappi a vite vanno puliti trattandoli varie ore con acido perclorico (4.11) e sciacquandoli bene per 5 volte con acqua (4.2). Infine si essiccano in stufa a 100 °C.

5.7. Pipette automatiche, con puntali in plastica monouso, in grado di fornire volumi di liquido compresi tra 50 e 200 microlitri.

5.8. Apparecchio di distillazione munito di colonna di Schneider a tre bolle o di una colonna di Vigreux equivalente.

6. MODALITA OPERATIVE

6.1. ***Analisi del campione***

6.1.1. Prelevare un tubo di dentifricio sigillato, aprirlo tagliandolo, trasferire tutto il contenuto in un recipiente di plastica ed omogeneizzare. Conservare in condizioni tali da evitare il deterioramento.

6.1.2. In una provetta da centrifuga (5.6), pesare esattamente circa 150 mg (m) di campione, aggiungere 5 ml di acqua (4.2) ed omogeneizzare (5.3).

6.1.3. Aggiungere 1 ml di xilene (4.5).

6.1.4. Aggiungere goccia a goccia 5 ml di acido cloridrico (4.3) ed omogeneizzare (5.3).

6.1.5. Aggiungere 0,5 ml di soluzione di trietilclorosilano e di standard interno (4.9).

6.1.6. Chiudere la provetta (5.6) con il tappo a vite, mescolare accuratamente per 45 minuti nell'agitatore (5.4) regolato in modo da fornire 150 colpi al minuto.

6.1.7. Centrifugare per 10 minuti ad una velocità tale che si ottenga una netta separazione delle fasi. Aprire, prelevare lo strato organico ed iniettarne 3 µl nella colonna del gascromatografo (5.2).

Osservazione :
L'eluizione di tutti i componenti richiede 20 minuti circa.

6.1.8. Ripetere l'iniezione, calcolare il rapporto medio delle aree dei picchi del trietilfluorosilano e del cicloesano (A_{TEFS}/A_{CH}) e leggere sulla curva di taratura (6.3) la corrispondente quantità di fluoruro, espressa in mg (m_1).

6.1.9. Calcolare il contenuto totale in fluoruri del campione, espresso in percentuale in massa di fluoruro come indicato al punto 7.

6.2. ***Condizioni cromatografiche***

6.2.1. Colonna

Materiale di costruzione : tubo di acciaio inossidabile.
Lunghezza : 180 cm.
Diametro : 3 mm.
Supporto : Gaschrom Q.
Granulometria : 80-100 mesh.
Fase stazionaria : 20 % di olio al silicone DC-200 o equivalente su gaschrom Q, 80-100 mesh.

Tale colonna deve essere condizionata a 100 °C per una notte con un flusso di azoto pari a 25 ml/min.

Tale operazione va ripetuta dopo ogni giornata di lavoro.

Ogni 4 o 5 iniezioni la colonna va altresì ricondizionata riscaldando a 100 °C e per trenta minuti.

Temperature :
colonna : 70 °C,
iniettore : 150 °C,
rivelatore : 250 °C.

Gas di trasporto : azoto.

Flusso del gas di trasporto : 35 ml/min.

6.3. ***Costruzione della curva di taratura***

6.3.1. In una serie di 6 provette da centrifuga (5.6) pipettare 0, 1, 2, 3, 4 e 5 ml della soluzione standard di fluoruro di sodio diluita (4.7.2).

Portare il volume di ciascuna provetta a 5 ml con acqua (4.2).

6.3.2. Procedere come descritto ai punti 6.1.3, 6.1.4, 6.1.5 e 6.1.6.

6.3.3. Iniettare 3 µl della fase organica contenuta in ogni provetta nella colonna del gascromatografo (5.2).

6.3.4. Ripetere l'iniezione e calcolare il rapporto medio delle aree dei picchi del trietilfluorosilano e del cicloesano (A_{TEFS}/A_{CH}).

6.3.5. Riportare in un grafico sulle ordinate i rapporti delle aree dei picchi del trietilfluorosilano e del cicloesano (A_{TEFS}/A_{CH}) misurati come indicato al punto 6.3.4, e sulle ascisse le masse di fluoruro, espresse in mg, contenute nelle soluzioni analizzate (6.3.1). Tracciare la curva di taratura.

7. CALCOLO

La concentrazione di fluoruri totali del campione, espressa come percentuale in massa (% m/m F^-), è data dalla formula seguente :

$$\% \text{ m/m } F^- = \frac{m_1}{m} \times 100$$

dove :

m : quantità di campione analizzata, espressa in mg (6.1.2),

m_1 : quantità di fluoruro, espressa in mg, letta sulla curva di taratura (6.1.8).

8. RIPETIBILITA [1]

Per un contenuto di F dell'ordine dello 0,15 % (m/m) la differenza fra i risultati di due determinazioni, effettuate in parallelo sullo stesso campione, non deve essere superiore allo 0,012 % in valore assoluto.

XX. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DEI COMPOSTI MERCURIO-ORGANICI

SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo, qui di seguito descritto, è adatto per identificare e determinare i composti mercurio-organici impiegati come conservanti nei prodotti cosmetici.

In particolare può essere applicato alle analisi del tiomersal (DCI) (2-(etilmercuriotio)benzoato di sodio), del fenilmercurio e dei suoi sali.

A. IDENTIFICAZIONE

1. PRINCIPIO

I composti mercurio-organici vengono complessati sotto forma di ditizonati. Dopo estrazione dei ditizonati con carbonio tetracloruro, si effettua una cromatografia su strato sottile con lastrine di gel di silice. I suddetti ditizonati si evidenziano come macchie di colore arancio.

2. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di qualità analitica.

2.1. Acido solforico 25 % (v/v).

---

[1] Secondo la norma ISO 5725.

2.2. Soluzione di 1,5-difenil-3-tiocarbazone (ditizone): solubilizzare 0,8 mg in 100 ml di carbonio tetracloruro (2.4).

2.3. Azoto.

2.4. Carbonio tetracloruro.

2.5. Sistema solvente per la cromatagrafia su strato sottile: esano/acetone 90: 10 (v/v).

2.6. Soluzioni delle seguenti sostanze di riferimento allo 0,001 %:

— 2-(Etilmercuriotio)benzoato di sodio.

— Cloruro di etilmercurio o cloruro di metilmercurio.

— Nitrato o acetato di fenilmercurio.

— Dicloruro di mercurio o di(acetato) di mercurio.

2.7. Lastrine cromatografiche di gel di silice, pronte per l'uso (Merck 5721) o analoghe.

2.8. Sodio cloruro.

3. ATTREZZATURA

3.1. Normale attrezzatura di laboratorio.

3.2. Normale attrezzatura per cromatografia su strato sottile.

3.3. Filtro per la separazione delle fasi.

4. PROCEDIMENTO

4.1. ***Estrazione***

4.1.1. In una provetta da centrifuga, disperdere 1 g di campione con 20 ml di acqua distillata. Realizzare la massima dispersione riscaldando la provetta in un bagnomaria alla temperatura di 60 °C. Aggiungere 4 g di sodio cloruro (2.8), agitare e raffreddare.

4.1.2. Centrifugare almeno 20 minuti alla velocità di 4 500 giri al minuto, per separare la maggior parte della fase solida. Filtrare in un imbuto separatore e aggiungere 0,25 ml di soluzione di acido solforico (2.1).

4.1.3. Estrarre più volte con 2 o 3 ml di soluzione di ditizone (2.2), finché l'ultima fase organica rimanga verde.

4.1.4. Filtrare su filtro separatore di fasi (3.3) ogni fase organica recuperata.

4.1.5. Evaporare a secco con corrente di azoto (2.3) le fasi organiche riunite.

4.1.6. Riprendere con 0,5 ml di carbonio tetracloruro (2.4) il residuo ottenuto e depositare immediatamente un'aliquota di questa soluzione come indicato in 4.2.1.

4.2. ***Separazione ed identificazione***

4.2.1. Depositare immediatamente su di una lastrina cromatografica di gel di silice (2.7) 50 µl della soluzione (4.1.6). Trattare simultaneamente come indicato al punto 4.1 e seguenti 10 ml delle soluzioni standard (2.6) e depositare sulla stessa lastrina 50 µl delle soluzioni ottenute in 4.1.6.

4.2.2. Sviluppare la piastrina nel solvente (2.5) a una altezza di 15 cm.

I composti mercurio-organici compaiono come macchie colorate, la cui colorazione è stabile a condizione di ricoprire la lastrina subito dopo l'evaporazione del solvente.

I valori di Rf ottenuti sono a titolo indicativo i seguenti:

	Rf	Colore
Tiomersal	0,33	arancio
Cloruro di etilmercurio	0,29	arancio
Cloruro di metilmercurio	0,29	arancio
Fenilmercurio e suoi sali	0,21	arancio
Dicloruro di mercurio	0,10	arancio
Di(acetato) di mercurio	0,10	arancio
1,5-Difenil-3-tiocarbazone	0,09	rosa

B. DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

1. DEFINIZIONE

Il tenore del campione in composti mercurio-organici, determinato secondo il seguente metodo, è espresso in percentuale di massa di mercurio.

2. PRINCIPIO

Il metodo consiste in un dosaggio del mercurio totale. È dunque necessario, preventivamente, accertarsi dell'assenza di mercurio inorganico e conoscere quale derivato mercurio-organico sia contenuto nel campione. Dopo mineralizzazione, il mercurio liberato viene dosato per assorbimento atomico senza fiamma.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di qualità analitica.

3.1. Acido nitrico concentrato (d_4^{20} = 1,41).

3.2. Acido solforico concentrato (d_4^{20} = 1,84).

3.3. Acqua bidistillata.

3.4. Soluzione di potassio permanganato al 7 % (m/v).

3.5. Soluzione di cloruro di idrossilammonio all'1,5 % (m/v).

3.6. Soluzione di perossodisolfato di dipotassio al 5 % (m/v).

3.7. Soluzione di dicloruro di stagno al 10 % (m/v).

3.8. Acido cloridrico concentrato (d_4^{20} = 1,18).

3.9. Lana di vetro impregnata con l'1 % di dicloruro di palladio.

4. APPARECCHIATURA

4.1. Attrezzatura comune di laboratorio.

4.2. Apparecchiatura per la determinazione del mercurio con la tecnica dell'assorbimento atomico senza fiamma (tecnica del vapore freddo), equipaggiata della necessaria vetreria e con lunghezza minima della cella di misura di 10 cm.

5. PROCEDIMENTO

Prendere tutte le precauzioni necessarie per la ricerca analitica di tracce di mercurio.

5.1. ***Mineralizzazione***

5.1.1. Pesare accuratamente 150 mg circa di campione (m). Aggiungere 10 ml di acido nitrico (3.1). Lasciare digerire per tre ore, in bagnomaria a 55 °C, in un recipiente ermeticamente chiuso, agitando a intervalli regolari. Contemporaneamente effettuare una prova in bianco.

5.1.2. Dopo raffreddamento, aggiungere 10 ml di acido solforico (3.2) e collocare nuovamente in bagnomaria a 55 °C per 30 minuti.

5.1.3. Porre il recipiente in un bagno di ghiaccio ed aggiungere cautamente 20 ml di acqua (3.3).

5.1.4. Aggiungere aliquote di 2 ml di soluzione di potassio permanganato (3.4), finché la soluzione resti colorata e collocare nuovamente in bagnomaria alla temperatura di 55 °C per altri 15 minuti.

5.1.5. Aggiungere 4 ml di soluzione di perossodisolfato di dipotassio (3.6) e continuare a riscaldare in bagnomaria a 55 °C per 30 minuti.

5.1.6. Lasciar raffreddare e travasare il contenuto del recipiente in un pallone tarato da 100 ml. Lavare il recipiente con 5 ml di soluzione di cloruro di idrossilammonio (3.5) e poi per 4 volte con 10 ml di acqua (3.3). Aggiungere tali fasi acquose al pallone tarato. La soluzione deve essere incolore. Portare poi il volume del pallone tarato a 100 ml di acqua (3.3).

5.2. ***Dosaggio***

5.2.1. Prelevare 10 ml della soluzione da esaminare (5.1.6) e portarli nel recipiente di vetro dell'apparecchio per la determinazione del mercurio (4.2). Diluire con 100 ml di acqua (3.3) ed aggiungere 5 ml di acido solforico (3.2) e 5 ml di soluzione di dicloruro di stagno (3.7). Mescolare dopo ogni aggiunta. Aspettare 30 secondi per ridurre tutto il mercurio ionico allo stato metallico e procedere alla misura (n).

5.2.2. Porre della lana di vetro impregnata di dicloruro di palladio (3.9) tra il recipiente di riduzione e la cella di misura dello strumento (4.2). Ripetere l'operazione indicata al punto 5.2.1 e se la misura (n') non è uguale a zero la mineralizzazione è stata incompleta e l'analisi deve essere ripetuta.

6. CALCOLO

Il tenore del campione espresso come mercurio in percentuale di massa è calcolato mediante la seguente formula :

$$\% \text{ di mercurio } (m/m) = \frac{n}{m}$$

dove :

n : la quantità di mercurio espressa in µg letta sullo strumento,

m : la massa espressa in mg del campione prelevato.

7. OSSERVAZIONI

7.1. Per migliorare la mineralizzazione può essere necessario procedere preventivamente ad una diluizione del campione in esame.

7.2. Qualora si sospetti che del mercurio possa essere stato fissato per adsorbimento da parte del substrato, deve essere effettuata una determinazione supplementare con la tecnica dell'arricchimento.

8. RIPETIBILITÀ [1]

Per concentrazioni di mercurio dello 0,007 % (m/m), la differenza fra i risultati di due determinazioni parallele effettuate sullo stesso campione non deve superare lo 0,00035 %.

XXI. DOSAGGIO DEI SOLFURI ALCALINI E ALCALINO-TERROSI

1. OGGETTO E CAMPO D'APPLICAZIONE

Il metodo, di seguito riportato, descrive il dosaggio dei solfuri nei prodotti cosmetici.

La presenza di tioli o di altre sostanze riducenti (solfiti inclusi) non interferisce nel dosaggio.

2. DEFINIZIONE

Il tenore del campione in solfuri, dosato secondo questo metodo, viene espresso in percentuale di massa di zolfo.

3. PRINCIPIO

Dopo acidificazione, l'idrogeno solforato, che si forma, viene trascinato da una corrente di azoto, e successivamente fissato sotto forma di solfuro di cadmio. Tale composto dopo filtrazione e lavaggio viene dosato iodometricamente.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di qualità analitica.

---

[1] Secondo la norma ISO 5725.

4.1. Acido cloridrico concentrato (d_4^{20} = 1,19).

4.2. Soluzione titolata di tiosolfato di sodio 0,1 N.

4.3. Soluzione titolata di iodio 0,1 N.

4.4. Solfuro di disodio.

4.5. Di(acetato) di cadmio.

4.6. Soluzione di ammonio idrossido concentrata (d_4^{20} = 0,90).

4.7. Soluzione ammoniacale di di(acetato) di cadmio: trattare 10 g di di(acetato) di cadmio (4.5) con 50 ml di acqua circa, aggiungere la soluzione di ammonio idrossido (4.6), quanto basta a ridisciogliere il precipitato (circa 20 ml) ed aggiungere acqua fino ad un volume di 100 ml.

4.8. Azoto.

4.9. Soluzione di ammonio idrossido 1 M.

5. MATERIALE

5.1. Materiale comune di laboratorio.

5.2. Pallone da 100 ml a tre colli smerigliati e normalizzati.

5.3. Due beute da 150 ml a collo smerigliato, munite di un dispositivo a tenuta contenente un tubo che vada a pescare sul fondo e di un altro tubo laterale per consentire il passaggio al gas di trascinamento.

5.4. Imbuto a gambo lungo.

6. MODALITÀ OPERATIVE

6.1. *Sviluppo dei solfuri*

6.1.1. Scegliere un campione da esaminare costituito da un recipiente sigillato. Pesarne nel pallone (5.2) una quantità (m) che corrisponda al massimo a 30 mg di ione solfuro. Introdurre 60 ml di acqua distillata e due gocce di liquido antischiuma.

6.1.2. Introdurre 50 ml della soluzione (4.7) in ciascuna delle due beute (5.3).

6.1.3. Adattare sul pallone (5.1) un imbuto da carico, un tubo che peschi sul fondo ed un tubo di sviluppo. Collegare il tubo di sviluppo alle beute (5.3), disposte in serie, mediante un tubo in PVC.

Nota :

Tale apparecchiatura deve superare la seguente prova di tenuta: in condizioni identiche a quelle della prova sostituire il prodotto da dosare con 10 ml di una soluzione di riferimento di solfuro di disodio preparata partendo dal composto (4.4) e contenente X mg di solfuro, determinati per via iodometrica. Siano Y i mg di solfuro trovati alla fine dell'operazione. La differenza tra le due quantità X ed Y non deve risultare superiore al 3 %.

6.1.4. Fare passare l'azoto (4.8) nell'apparecchiatura alla velocità di flusso di due bolle al secondo, per 15 minuti, per scacciare l'aria contenuta nel pallone (5.2).

6.1.5. Riscaldare il pallone (5.2) ad una temperatura di 85 °C ± 5 °C.

6.1.6. Arrestare il flusso di azoto (4.8) ed aggiungere goccia a goccia dall'imbuto da carico 40 ml di acido cloridrico (4.1).

6.1.7. Ristabilire il flusso di azoto (4.8) una volta che sia defluita la quasi totalità dell'acido, lasciandone nell'imbuto da carico un minimo livello per evitare fughe di idrogeno solforato.

6.1.8. Dopo 30 minuti sospendere il riscaldamento e lasciar raffreddare il pallone (5.2) continuando a far passare la corrente di azoto (4.8) per almeno 90 minuti.

6.2. ***Titolazione***

6.2.1. Filtrare il solfuro di cadmio formatosi nelle beute (5.3) in un imbuto a gambo lungo (5.4).

6.2.2. Lavare le beute (5.3) prima con una soluzione di ammonio idrossido (4.9), che va poi versata sul filtro, e successivamente con acqua distillata utilizzandola per lavare il precipitato trattenuto dal filtro.

6.2.3. Terminare il lavaggio del precipitato con 100 ml di acqua.

6.2.4. Porre il filtro di carta nella prima beuta (5.3) che ha contenuto il precipitato. Aggiungere 25,0 ml di soluzione titolata di iodio 0,1 N (4.3), 20 ml circa di acido cloridrico (4.1) e 50 ml di acqua distillata.

6.2.5. Dosare l'eccesso di iodio con la soluzione titolata di tiosolfato di sodio (4.2) Sia n_2 il numero di ml utilizzato.

7. CALCOLO

Il tenore del campione espresso in percentuale di massa di zolfo è calcolato mediante la seguente formula :

$$\% \, S \, (m/m) = \frac{(n_1 x_1 - n_2 x_2) \cdot 32}{20 \, m}$$

dove :

n_1 : ml adoperati della soluzione titolata di iodio (4.3),

x_1 : normalità di questa soluzione,

n_2 : ml adoperati della soluzione titolata di sodio tiosolfato (4.2),

x_2 : normalità di questa soluzione,

m : massa di campione prelevata espressa in g.

8. RIPETIBILITÀ [1]

Per un tenore di solfuri dell'ordine del 2 % (m/m) la differenza tra i risultati di due dosaggi paralleli effettuati sullo stesso campione non deve superare lo 0,2 %.

---

[1] Secondo la norma ISO 5725.

XXII. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DEL 4-AMMINOBENZOATO DI GLICEROLO

A. IDENTIFICAZIONE

1. OGGETTO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo è destinato ad evidenziare la presenza dell'estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico e permette altresì di identificare l'estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico (benzocaina DCI) eventualmente presente come impurezza.

2. PRINCIPIO

L'identificazione si effettua mediante cromatografia su strato sottile di gel di silice con indicatore di fluorescenza, ed evidenziazione della funzione aminica primaria libera attraverso la formazione di un colorante azoico sulla lastrina.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

3.1. Miscela solvente: Cicloesano/propan-2-olo/diclorometano stabilizzato: 48 : 64 : 9 (v/v/v).

3.2. Solvente di sviluppo: Etere di petrolio (40-60 °C /Benzene/Acetone/Ammonio idrossido soluzione (concentrazione minima in NH_3 25 %): 35 : 35 : 35 : 1 (v/v/v/v).

3.3. Rivelatore: Soluzione a):

sodio nitrito: 1,0 g in 100 ml di HCl M (da preparare immediatamente prima dell'uso).
Soluzione b):

2-naftolo: 0,2 g in 100 ml di KOH M.

3.4. Soluzioni di riferimento:

- Estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico:
  0,050 g in 100 ml della miscela solvente (3.1).
- Estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico:
  0,050 g in 100 ml della miscela solvente (3.1).

3.5. Lastrine di gel di silice 60 F254, di spessore 0,25 mm, dimensioni 20 × 20 cm, tipo Sil 60G 25 HR/UV 254 o equivalenti.

4. APPARECCHIATURA

4.1. Apparecchiatura comune per cromatografia su strato sottile.

4.2. Bagno ad ultrasuoni.

4.3. Filtri Millipore FH, di porosità 0,5 µm o equivalenti.

5. MODALITÀ OPERATIVE

5.1. **Preparazione del campione**

Pesare 1,5 g del prodotto da analizzare in una provetta graduata da 10 ml con tappo a smeriglio, portare a 10 ml con la miscela solvente (3.1). Tappare e lasciare per un'ora a temperatura ambiente in un bagno ad ultrasuoni (4.2). Filtrare con filtro Millipore (4.3). Utilizzare il filtrato per la cromatografia.

5.2. **Cromatografia su strato sottile**

Su di una lastrina (3.5) depositare 10 µl del filtrato (5.1) e 10 µl di ciascuna soluzione di riferimento (3.4). Sviluppare il cromatogramma per 15 cm in una vaschetta previamente saturata con il solvente (3.2).

5.3. **Identificazione**

5.3.1. Osservare la lastrina alla lunghezza d'onda di 254 nm.

5.3.2. Sulla lastrina perfettamente essiccata, spruzzare la soluzione (3.3.a).

Lasciare asciugare a temperatura ambiente per 1 minuto e spruzzare immediatamente la soluzione (3.3.b).

Essiccare la lastrina in stufa a + 60 °C.

Le macchie appaiono colorate in arancio. R_f dell'estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico 0,07; R_f dell'estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico 0,55.

B. DOSAGGIO

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo descrive il dosaggio dell'estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico e consente altresì il dosaggio dell'estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico. Tale metodo è idoneo al dosaggio di un massimo del 5 % (m/m) dell'estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico e dell'1 % (m/m) dell'estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico.

2. DEFINIZIONE

Il contenuto in estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico e in estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico, determinato col presente metodo, è espresso in percentuale di massa (% m/m) del prodotto.

3. PRINCIPIO

Il prodotto da analizzare è opportunamente trattato, ed il dosaggio viene effettuato per cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC).

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica, ed in particolare idonei per la cromatografia liquida ad alta prestazione

4.1. Metanolo.

4.2. Diidrogeno ortofosfato di potassio KH_2PO_4.

4.3. Di(acetato) di zinco diidrato $Zn\ (CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$.

4.4. Acido acetico: $d_{4^\circ}^{20^\circ} = 1{,}05$.

4.5. Potassio ferrocianuro triidrato $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$.

4.6. Estere etilico dell'acido 4-idrossibenzoico.

4.7. Estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico.

4.8. Estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico (benzocaina).

4.9. Soluzione tampone 0,02 M: sciogliere 2,72 g di diidrogeno ortofosfato di potassio (4.2) in 1 000 ml di acqua.

4.10 Eluente: Soluzione tampone (4.9)/Metanolo (4.1): 61/39 (v/v). La composizione della fase mobile può essere modificata affinché il fattore di risoluzione R sia $\geq$ 1,5.

$$R = 2\,\frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

dove:

R_1 e R_2 = tempi di ritenzione espressi in minuti di due sostanze;
W_1 e W_2 = ampiezza degli stessi picchi misurata a metà altezza ed espressa in mm;
d' = velocità di scorrimento della carta del registratore espressa in mm/min.

4.11. Soluzione di riserva di estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico: Pesare esattamente circa 40 mg di estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico. Introdurli in un pallone tarato da 100 ml. Dissolvere in 40 ml di metanolo (4.1). Portare a volume con la soluzione tampone (4.9) e mescolare.

4.12. Soluzione di riserva di estere etilico dell'acido amminobenzoico: Pesare esattamente circa 40 mg di estere etilico dell'acido amminobenzoico. Introdurli in un pallone tarato da 100 ml. Dissolvere in 40 ml di metanolo (4.1). Portare a volume con la soluzione tampone (4.9) e mescolare.

4.13. Soluzione contenente lo standard interno: Pesare esattamente circa 50 mg di estere etilico dell'acido 4-idrossibenzoico, introdurli in un pallone tarato da 100 ml e solubilizzarli in 40 ml di metanolo (4.1). Portare a volume con la soluzione tampone 0,02 M (4.9) e mescolare.

4.14 Soluzioni di riferimento: Mediante una dissoluzione in 100 ml d'eluente (4.10) preparare quattro soluzioni di riferimento conformemente alla seguente tabella:

Soluzioni di riferimento	Estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico		Estere etilico dell'acido amminobenzoico		Estere etilico dell'acido amminobenzoico	
	ml (4.11)	µg/ml (*)	ml (4.12)	µg/ml (*)	ml (4.13)	µg/ml (*)
I	2	8	2	8	10	50
II	4	16	3	12	10	50
III	6	24	4	16	10	50
IV	10	40	5	20	10	50

(*) Questi valori sono dati a titolo indicativo e corrispondono alla pesata esatta delle soluzioni 4.11, 4.12 e 4.13.

NB: Queste soluzioni possono essere ottenute in modi diversi.

4.15 Soluzione di Carrez I: Sciogliere 26,5 g di potassio ferrocianuro (4.5) in acqua e portare a volume in pallone tarato da 250 ml.

4.16 Soluzione di Carrez II: sciogliere 54,9 g di (acetato) di zinco (4.3) e 7,5 ml di acido acetico (4.4) in acqua e portare a volume in pallone tarato da 250 ml.

4.17. Lichrosorb RP-18 o equivalente da 5 μm.

5. APPARECCHIATURA

5.1 Materiale comune di laboratorio.

5.2. Cromatografo liquido ad alta prestazione accoppiato con rivelatore UV a lunghezza d'onda variabile, e camera di termostatazione fissata a 45 °C.

5.3. Colonna in acciaio inossidabile:

lunghezza: 250 mm,
diametro interno: 4,6 mm,
riempimento: Lichrosorb RP-18 (4.17).

5.4. Bagno ad ultrasuoni.

6. MODALITÀ OPERATIVE

6.1. **Preparazione del campione**

6.1.1. Pesare esattamente circa 1,0 g di campione in un becher da 100 ml e aggiungere 10 ml di metanolo (4.1).

6.1.2. Porre per 20 minuti il becher in un bagno ad ultrasuoni (5.4). Travasare la sospensione così ottenuta in un pallone tarato da 100 ml, impiegando al massimo 75 ml di eluente (4.10). Aggiungere successivamente 1 ml di soluzione di Carrez I (4.15) e 1 ml di soluzione di Carrez II (4.16) mescolando dopo ogni operazione. Portare a volume con l'eluente (4.10), mescolare nuovamente e filtrare su filtro di carta a pieghe.

6.1.3. Mediante una pipetta introdurre 3,0 ml del filtrato ottenuto al punto 6.1.2 e 5,0 ml della soluzione contenente lo standard interno (4.13) in un pallone tarato da 50 ml.

Portare a volume con l'eluente (4.10) e mescolare. Utilizzare la soluzione così ottenuta per procedere all'analisi cromatografia come descritto al punto 6.2.

6.2. **Cromatografia**

6.2.1. Regolare il flusso della fase mobile (4.10) a 1,2 ml/min, e la temperatura della colonna a 45 °C.

6.2.2. Fissare la lunghezza d'onda del rivelatore (5.2) a 274 nm.

6.2.3. Iniettare nel cromatografo (5.2) 20 μl della soluzione (6.1.3) e misurare la superficie dei picchi.

6.3. **Curve di taratura**

6.3.1. Iniettare 20 μl di ciascuna delle soluzioni di riferimento (4.14) e misurare la superficie dei picchi.

6.3.2. Calcolare i rapporti delle superfici dei picchi dell'estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico e dei picchi dello standard interno (4.6) e tracciare la curva di taratura riportando i suddetti rapporti in ordinata e ponendo in ascissa i rapporti in ordinata e ponendo in ascissa i rapporti delle masse corrispondenti.

6.3.3 Eseguire lo stesso procedimento per l'estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico.

7. CALCOLO

7.1. Sulle curve di taratura, ottenute al punto 6.3, leggere i rapporti di massa Rp_1 e Rp_2 corrispondenti ai rapporti tra le superfici dei picchi calcolati come indicato ai punti 6.2.3 e 6.3.1 dove:

Rp_1 = rapporto delle masse dell'estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico/estere etilico dell'acido 4-idrossibenzoico;

Rp_2 = rapporto delle masse dell'estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico/estere etilico dell'acido 4-idrossibenzoico.

7.2. A partire dai rapporti di massa così ottenuti, calcolare il contenuto in estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico e dell'estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico espresso come percentuale di massa (% m/m), mediante le seguenti formule:

g % (m/m) di estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico = $Rp_1 \times \frac{q}{6\,p}$

g % (m/m) di estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico = $Rp_2 \times \frac{q}{6\,p}$

dove:

q = quantità in mg di estere etilico dell'acido 4-idrossibenzoico, pesata come descritto al punto 4.13;
p = quantità in g di campione, pesata come descritto al punto 6.1.1.

8. RIPETIBILITÀ (¹)

8.1. Per un contenuto uguale al 5 % (m/m) in estere monoglicerico dell'acido 4-amminobenzoico, la differenza tra i risultati di due dosaggi effettuati in parallelo sullo stesso campione non deve superare lo 0,25 %.

8.2. Per un contenuto uguale all'1 % (m/m) in estere etilico dell'acido 4-amminobenzoico, la differenza tra i risultati di due dosaggi effettuati in parallelo sullo stesso campione non deve superare lo 0,10 %.

9. OSSERVAZIONI

9.1. Prima di iniziare l'analisi è opportuno accertarsi che il campione non contenga composti il cui picco possa coincidere con quello dello standard interno.

9.2. Per assicurarsi dell'assenza di interferenze, ripetetere la determinazione modificando del 10 % la proporzione di metanolo presente nella fase mobile.

XXIII. DOSAGGIO DEL CLOROBUTANOLO

1. OGGETTO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Questo metodo è destinato alla determinazione del clorobutanolo fino ad una concentrazione dello 0,5 % (m/m) in tutti i prodotti cosmetici ad eccezione degli aerosol.

2. DEFINIZIONE

Il contenuto di clorobutanolo misurato con questo metodo è espresso come percentuale di massa (% m/m) di prodotto.

3. PRINCIPIO

Dopo appropriato trattamento del campione da analizzare si effettua la determinazione con un metodo gas cromatografico usando 2,2,2-tricloroetanolo come standard interno.

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere analiticamente puri.

4.1. Clorobutanolo (1,1,1-tricloro-2-metil-propan-2-olo).

4.2. 2,2,2-tricloroetanolo.

4.3. Alcool etilico assoluto.

4.4. Soluzione standard di clorobutanolo: 0,025 g in 100 ml di alcool etilico (4.3).

4.5. Soluzione standard di 2,2,2-tricloroetanolo: 4 mg in 100 ml di alcool etilico (4.3).

5. APPARECCHIATURA

5.1. Normale apparecchiatura di laboratorio.

5.2. Gas cromatografo equipaggiato con detector a cattura di elettroni, alimentato da Ni^{63}.

6. METODO

6.1. **Preparazione del campione**

Pesare accuratamente una quantità di campione compresa tra 0,1 e 0,3 g. Trasferirla in un matraccio tarato da 100 ml. Solubilizzarla con etanolo (4.3), aggiungere 1 ml di soluzione di standard interno (4.5) e portare a volume con etanolo (4.3).

(¹) Secondo la norma ISO 5725.

6.2. **Condizioni gas cromatografiche**

6.2.1. Le condizioni operative devono essere tali da fornire un fatto di risoluzione R > 1,5 dove:

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

dove:

R_1 e R_2 = tempi di ritenzione espressi in minuti di due picchi;

W_1 e W_2 = ampiezza degli stessi picchi misurata a metà altezza ed espressa in mm;

d' = velocità di scorrimento della carta del registratore espressa in mm/min.

6.2.2. Come esempio, le seguenti condizioni forniscono la risoluzione richiesta:

Colonna	I	II
Materiale di costruzione	vetro	acciaio inossidabile
Lunghezza	1,8 m	3 m
Diametro interno	3 mm	3 mm
Fase stazionaria	Carbowax 20 M TPA al 10 % supportato su Gaschrom Q 80 — 100 mesh	OV 17 al 5 % supportato su Chromosorb WAW DMCS 80 — 100 mesh
Condizionamento	2 — 3 giorni a 190 °C	—
Temperatura:		
— iniettore	200 °C	150 °C
— colonna	150 °C	100 °C
— detector	200 °C	150 °C
Gas di trascinamento	Azoto	Argon/Metano (95/5 v/v)
Flusso	35 ml/min	35 ml/min

6.3. **Curva di taratura**

In cinque matracci tarati da 100 ml aggiungere 1 ml di soluzione standard (4.5) e rispettivamente 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 ml di soluzione (4.4), portando a volume con etanolo (4.3) ed agitando. Iniettare 1 µl di ognuna di queste soluzioni nel cromatografo nelle condizioni operative descritte al punto 6.2.2 e tracciare la curva di taratura riportando sulle ascisse il rapporto delle masse del clorobutanolo rispetto al 2,2,2-tricloroetanolo e sulle ordinate il rapporto delle aree dei picchi corrispondenti.

7. CALCOLO

7.1. Calcolare dalla curva di taratura (6.3) la quantità « a », espressa come µg di clorobutanolo, nella soluzione (6.1).

7.2. Il contenuto di clorobutanolo nel campione è calcolato secondo la formula:

$$\% \text{ clorobutanolo (m/m)} = \frac{a \times 10^2}{p \times 10^6} = \frac{a}{p \times 10^4}$$

8. RIPETIBILITÀ (¹)

Per un contenuto di clorobutanolo uguale allo 0,5 % (m/m) la differenza tra i risultati di due dosaggi effettuati in parallelo sullo stesso campione non deve superare lo 0,01 %.

NB

Se il risultato è uguale o superiore alla concentrazione massima autorizzata, occorre verificare l'assenza di interferenze.

(¹) Secondo la norma ISO 5725.

XXIV. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DELLA CHININA

A. IDENTIFICAZIONE

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Questo metodo descrive l'identificazione della chinina negli shampoo e nelle lozioni per capelli.

2. PRINCIPIO

L'identificazione si effettua mediante cromatografia su strato sottile di gel di silice ed evidenziazione della fluorescenza blu a 360 nm della chinina sviluppata in ambiente acido.

Per conferma si può abolire questa fluorescenza per mezzo di vapori di bromo e far comparire una fluorescenza giallastra con vapori di ammoniaca.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

3.1. Lastrina di gel di silice di spessore pari a 0,25 mm, senza indicatore di fluorescenza, di dimensioni pari a 200 mm × 200 mm.

3.2. Solvente di sviluppo: Toluene/etere dietilico/diclorometano/dietilammina : 20 : 20 : 20 : 8 (v/v/v/v)

3.3. Metanolo.

3.4. Acido solforico 96 % ($d_{4°}^{20°}$: 1,84).

3.5. Etere dietilico.

3.6. Reattivo di evidenziazione : Aggiungere, con cautela, 5 ml di acido solforico (3.4) a 95 ml di etere dietilico (3.5) in un recipiente refrigerato.

3.7. Bromo

3.8. Ammoniaca 28 % ($d_{4°}^{20°}$: 0,90).

3.9. Chinina anidra.

3.10. Soluzione di riferimento: Pesare esattamente circa 100 mg di chinina anidra (3.9) e solubilizzarli con metanolo (3.3) portandoli a volume in un matraccio tarato da 100 ml.

4. APPARECCHIATURA

4.1. Apparecchiatura comune per cromatografia su strato sottile.

4.2. Bagno ad ultrasuoni.

4.3. Filtri Millipore FH 0,5 µm o analoghi con opportuna attrezzatura filtrante.

5. MODALITÀ OPERATIVE

5.1. **Preparazione del campione**

Pesare con precisione una quantità di prodotto cosmetico tale da contenere circa 100 mg di chinina. Introdurla in un matraccio tarato da 100 ml, solubilizzare e portare a volume con metanolo (3.3).

Lasciare per un'ora a temperatura ambiente in bagno ad ultrasuoni (4.2). Filtrare su filtro (4.3) e usare questo filtrato per la cromatografia.

5.2. **Cromatografia su strato sottile**

Depositare su lastrina (3.1), 1,0 µl di soluzione di riferimento (3.10) e 1,0 µl di soluzione in esame (5.1). Far camminare il solvente per un tratto di 150 mm in una vaschetta presaturata di vapori di solvente (3.2).

5.3. **Evidenziazione**

5.3.1. Asciugare la lastrina a temperatura ambiente.

5.3.2. Nebulizzare il reattivo (3.6).

5.3.3. Lasciare asciugare la lastrina per un'ora a temperatura ambiente.

5.3.4. Osservare la lastrina irradiandola con luce UV alla lunghezza d'onda di 360 nm. La chinina compare come una macchia fluorescente di colore blu intenso.

A titolo esemplificativo lo schema seguente riporta gli Rf dei principali alcaloidi della China, sviluppati su gel di silice con il solvente (3.2)

Alcaloidi	Rf
Chinina	0,20
Chinidina	0,29
Cinconina	0,33
Cinconidina	0,27
Idrochinidina	0,17

5.3.5 Per ulteriore conferma dell'identificazione della chinina, si esponga per un'ora la lastrina ai vapori di bromo (3.7), la fluorescenza scompare. Esponendo infine la stessa lastrina ai vapori di ammoniaca (3.8.), le macchie ricompaiono con colore bruno, e si riesaminano irradiando con luce UV a 360 nm si evidenzia una fluorescenza giallastra.

Limite di identificazione: 0,1 μg di chinina.

B. DOSAGGIO

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Questo metodo è idoneo per il dosaggio della chinina, e può essere usato per dosare le concentrazioni massime consentite dello 0,5 % (m/m) negli shampoos e dello 0,2 % (m/m) nelle lozioni per capelli.

2. DEFINIZIONE

Il contenuto in chinina misurato con questo metodo è espresso in percentuale di massa (% m/m) di prodotto.

3. PRINCIPIO

Dopo idoneo trattamento il campione è analizzato per cromatorafia liquida ad alta prestazione (HPLC).

4. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere analiticamente puri ed idonei per la cromatografia liquida.

4.1. Acetonitrile.

4.2. Diidrogenoortofosfato di potassio KH_2PO_4.

4.3. Acido ortofosforico 85 % ($d^{20°}_{4°}$: 1,7).

4.4. Bromuro di tetrametilammonio.

4.5. Chinina anidra.

4.6. Metanolo.

4.7. Soluzione di acido ortofosforico 0,1 M:

solubilizzare 11,53 g di acido ortofosforico (4.3) in 1 000 ml di acqua distillata in matraccio tarato.

4.8. Soluzione di diidrogenoortofosfato di potassio 0,1 M:

solubilizzare 13,6 g di 4.2 in 1 000 ml di acqua distillata in matraccio tarato.

4.9. Soluzione di bromuro di tetrametilammonio 0,1 M:

solubilizzare 15,4 g di 4.4 in 1 000 ml di acqua distillata in matraccio tarato.

4.10. Eluente: Acido ortofosforico 0,1 M (4.7) — diidrogenoortofosfato di potassio 0,1 M (4.8)-tetrametilammonio bromuro 0,1 M (4.9)-acqua per HPLC-acetonitrile (4.1): 10 : 50 : 100 : 340 : 90 (v/v/v/v/v).

La composizione della fase mobile può essere modificata in modo tale che il fattore di risoluzione R sia $\geq$ 1,5

$$R = 2\,\frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

ove:

R_1 e R_2 = tempi di ritenzione espressi in minuti di due sostanze;
W_1 e W_2 = ampiezza degli stessi picchi misurata a metà altezza ed espressa in mm;
d' = velocità di scorrimento della carta del registratore espressa in mm/min.

4.11. Silice octadecilsilanizzata di granulometria pari a 10 μm.

4.12. Soluzioni standard: in una serie di matracci tarati da 100 ml, pesare rispettivamente con precisione 5,0, 10,0, 15,0, 20,0 mg di chinina anidra (4.5). Portare a volume con metanolo (4.6) e solubilizzare. Filtrare ogni soluzione su filtro (5.5).

5. APPARECCHIATURA

5.1. Apparecchiatura comune da laboratorio.

5.2. Bagno ad ultrasuoni.

5.3. Cromatografo in fase liquida ad alta risoluzione con detector UV a lunghezza d'onda variabile.

5.4. Colonna in acciaio inossidabile:

lunghezza: 250 mm,
diametro interno: 4,6 mm,
riempimento: silice octadecilsilanizzata (4.11).

5.5. Filtri Millipore FH 0,5 μm o equivalenti con opportuna attrezzatura filtrante.

6. MODALITÀ OPERATIVE

6.1. **Preparazione del campione**

Pesare esattamente in un matraccio tarato da 100 ml una quantità di campione tale da contenere circa 10 mg di chinina anidra. Aggiungere 20 ml di metanolo (4.6) e lasciare tale matraccio per 20 minuti in un bagno ad ultrasuoni (5.2). Portare poi a volume con metanolo (4.6). Omogeneizzare la soluzione e filtrarne un'aliquota su filtro (5.5).

6.2. **Cromatografia**

— Flusso fase mobile (4.10): 1,0 ml/min.
— Lunghezza d'onda del detector (5.3): 332 nm.
— Volume iniettato di soluzione filtrata (6.1): 10,0 µl.
— Misurare l'area dei picchi.

6.3. **Retta di taratura**

Iniettare, per almeno tre volte, 10,0 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento (4.12), misurare l'area dei picchi ottenuti e calcolarne la media per ogni concentrazione. Tracciare la retta di taratura.

7. CALCOLO

7.1. Sulla retta di taratura (6.3) determinare la quantità in µg di chinina anidra presente nel volume iniettato (6.2).

7.2. La concentrazione in chinina anidra nel campione, espressa come % (m/m), è ottenuta mediante la seguente formula:

$$\% \text{ (m/m) di chinina anidra} = \frac{B}{A}$$

dove:

B = quantità espressa in µg iniettati della soluzione filtrata (6.1.1);
A = massa prelevata del campione in esame (6.1) espressa in g.

8. RIPETIBILITÀ [1]

Per un contenuto in chinina anidra uguale allo 0,5 % (m/m), la differenza tra i risultati di due dosaggi effettuati in parallelo sullo stesso campione non deve superare lo 0,02 %.

Per un contenuto in chinina anidra uguale allo 0,2 % (m/m), la differenza tra i risultati di due dosaggi effettuati in parallelo sullo stesso campione non deve superare lo 0,01 %.

XXV. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DEI SOLFITI E BISOLFITI INORGANICI

SCOPO E CAMPO D'APPLICAZIONE

Il metodo descrive l'identificazione ed il dosaggio dei solfiti e bisolfiti inorganici nei cosmetici.

Esso è applicabile solo a prodotti che si presentino come una fase alcolica o acquosa e per concentrazioni fino allo 0,2 % di anidride solforosa.

A. IDENTIFICAZIONE

1. PRINCIPIO

Il campione è riscaldato con acido cloridrico e l'anidride solforosa liberata è identificata tramite l'odore caratteristico o il comportamento di una cartina indicatore.

2. REAGENTI

Tutti i reagenti devono essere di purezza analitica.

2.1. Acido cloridrico (4 M).

2.2. Cartina impregnata di amido e potassio iodato o equivalente.

3 APPARECCHIATURA

3.1. Normale apparecchiatura di laboratorio.

3.2. Beuta da 25 ml raccordata con un breve refrigerante a ricadere.

4. PROCEDIMENTO

4.1. Portare circa 2,5 g di campione nella beuta (3.2) ed aggiungere 10 ml di acido cloridrico (2.1).

4.2. Mescolare e riscaldare all'ebollizione.

4.3. Controllare la presenza di anidride solforosa mediante l'odore o la cartina indicatore (2.2).

---

[1] Secondo la norma ISO 5725.

B. DETERMINAZIONE

1. DEFINIZIONE

Il contenuto del campione in solfito o bisolfito determinato con questo metodo è espresso come p rcentuale di massa di anidride solforosa.

2. PRINCIPIO

Dopo acidificazione del campione l'anidride solforosa liberata è distillata in una soluzione di acqua ossigenata. L'acido solforico che si forma è controllato con una soluzione standard di sodio idrossido.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di qualità analitica.

3.1. Acqua ossigenata 0,2 % (m/v) preparata giornalmente.

3.2. Acido ortofosforico ($d_{4°}^{25°}$: 1,75).

3.3. Metanolo.

3.4. Sodio idrossido (0,01 M) soluzione a titolo noto.

3.5. Azoto.

3.6. Indicatore : miscela 1 : 1 (v/v) di rosso di metile (0,03 % m/v in etanolo) e blu di metilene (0,05 % m/v in etanolo). Filtrare la soluzione.

4. APPARECCHIATURA

4.1. Normale attrezzatura di laboratorio.

4.2. Apparecchio di distillazione (vedi figura).

5. PROCEDIMENTO

5.1. Pesare accuratamente circa 2,5 g di campione nel pallone di distillazione A (vedi figura).

5.2. Aggiungere 60 ml di acqua e 50 ml di metanolo (3.3) e mescolare.

5.3. Porre 10 ml di soluzione di acqua ossigenata (3.1), 60 ml di acqua e poche gocce di indicatore (3.6) nel recipiente di raccolta D (vedi figura). Aggiungere poche gocce di soluzione di sodio idrossido (3.4) finché l'indicatore viri al verde.

5.4. Ripetere il punto 5.3, per la bottiglia di lavaggio E (vedi figura).

5.5. Montare l'apparecchiatura e far gorgogliare l'azoto (3.5) al flusso di circa 60 bolle al minuto.

5.6. Far gocciolare 15 ml di acido fosforico (3.2) dall'imbuto di carico nel pallone di distillazione A.

5.7. Portare rapidamente all'ebollizione e distillare per 30 minuti.

5.8. Sconnettere il recipiente di distillazione D. Lavare il tubo e titolare con soluzione di sodio idrossido (3.4) finché l'indicatore viri al verde (3.6).

6. CALCOLO

Calcolare il contenuto in solfito o bisolfito in percentuale di massa nel campione mediante la seguente espressione :

$$\% \text{ m/m di anidride solforosa} = \frac{3{,}2\ MV}{m}$$

Dove :

M = concentrazione molare della soluzione di sodio idrossido (3.4) ;

V = volume (in ml) di sodio idrossido (3.4) consumato per la titolazione (5.8) ;

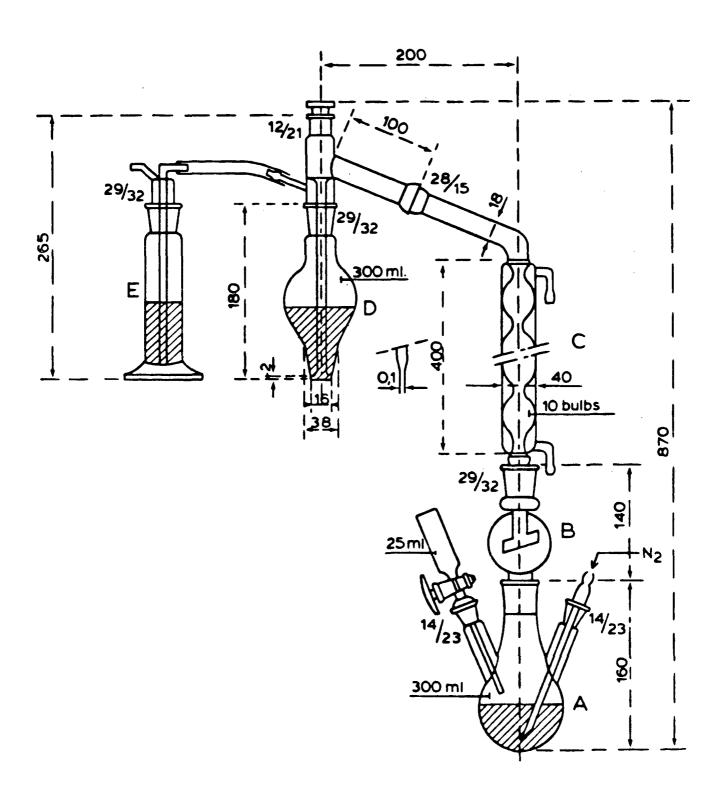
m = prelievo del campione (5.1), quantità espressa in g.

7. RIPETIBILITÀ (1)

Per un contenuto dello 0,2 % m/m di anidride solforosa la differenza fra due determinazioni eseguite in parallelo sullo stesso campione non deve essere maggiore dello 0,006 %.

(1) Secondo la norma ISO 5725.

Apparecchio per la distillazione dell'anidride solforosa secondo Tanner

Tutte le dimensioni sono date in millimetri

XXVI. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DEI CLORATI DEI METALLI ALCALINI

FINALITÀ A CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo descrive l'identificazione ed il dosaggio dei clorati nei dentifrici e negli altri prodotti cosmetici.

A. IDENTIFICAZIONE

1. PRINCIPIO

I clorati sono separati dagli altri sali alogenati per cromatografia su strato sottile, e vengono identificati per formazione di iodio ottenuto per ossidazione dallo ioduro di potassio.

2. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

2.1. Soluzioni di riferimento : Soluzioni acquose di clorato, bromato, iodato di potassio (0,2 % m/v) preparate di recente.

2.2. Solvente di sviluppo : Soluzione di ammoniaca (28 % m/v)/acetone/butanolo (60/130/30 v/v/v).

2.3. Soluzione acquosa di ioduro di potassio (1-5 % m/v).

2.4. Soluzione di amido (5 % m/v).

2.5. Acido cloridrico M.

2.6. Lastrine per strato sottile di cellulosa, di 0,25 mm di spessore, pronto per l'uso.

3. APPARECCHIATURA

Normale apparecchiatura per la cromatografia su strato sottile.

4. MODALITÀ OPERATIVE

4.1. Estrarre 1 g circa del campione con acqua, filtrare e diluire a 25 ml circa.

4.2. Deporre 2 µl di soluzione (4.1) sulla lastrina (2.6) e separatamente 2 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento (2.1).

4.3. Collocare la lastrina in una vaschetta di sviluppo e svilupparla per tre quarti circa della sua lunghezza mediante il solvente (2.2).

4.4. Estrarre la lastrina dalla vasca e lasciar evaporare il solvente.

(NB : L'evaporazione può richiedere fino a due ore).

4.5. Spruzzare la lastrina con la soluzione di ioduro di potassio (2.4) e lasciar asciugare per 5 minuti circa.

4.6. Spruzzare la lastrina con soluzione di amido (2.4) e lasciar asciugare per 5 minuti circa.

4.7. Spruzzare la lastra con acido cloridrico (2.5).

5. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il clorato si evidenzia dopo circa 30 minuti come una macchia di colore blu (eventualmente bruno). A titolo esemplificativo si riportano nella tabella seguente gli Rf delle sostanze in oggetto.

Sostanze	Rf
Clorato	0,7 — 0,8
Bromato	0,5 — 0,6
Iodato	0,0 — 0,2

Si osservi che bromati e iodati reagiscono immediatamente e non si confondano le macchie dei bromati con quelle dei clorati.

B. DETERMINAZIONE

1. DEFINIZIONE:

Il tenore del campione in clorato determinato secondo questo metodo è espresso in percentuale di massa di clorato.

2. PRINCIPIO

Il clorato viene ridotto con polvere di zinco in ambiente acido. Il cloruro che si forma viene titolato potenziometricamente con soluzione di nitrato d'argento. Una determinazione analoga prima della riduzione consente di rilevare l'eventuale presenza di alogenuri.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

3.1. Acido acetico 80 % (m/m).

3.2. Polvere di zinco.

3.3. Soluzione a titolo noto di nitrato di argento 0,1 M.

4. APPARECCHIATURA

4.1. Apparecchiatura comune di laboratorio.

4.2. Potenziografo provvisto di elettrodo indicatore per l'argento.

5. MODALITÀ OPERATIVE

5.1. **Preparazione del campione**

In una provetta da centrifuga, pesare con precisione una quantità (m) di campione pari a circa 2 g. Aggiungere 15 ml circa di acido acetico (3.1) e mescolare bene. Dopo 30 minuti centrifugare per 15 minuti a 2 000 g om. Travasare il surnatante in un matraccio tarato da 50 ml, ripetere due volte la centrifugazione aggiungendo 15 ml di acido acetido (3.1) per volta, al residuo. Riunire le soluzioni nel suddetto matraccio tarato. Portare a volume con acido acetico (3.1).

5.2. **Riduzione del clorato**

Prelevare 20 ml di soluzione (5.1) e aggiungere 0,6 g di polvere di zinco (3.2). Portare all'ebollizione in pallone provvisto di refrigerante a ricadere. Dopo trenta minuti di ebollizione raffreddare e filtrare.

5.3. **Determinazione del cloruro**

Titolare la soluzione (5.2) con nitrato di argento (3.3) impiegando il potenziografo (4.2). Titolare nelle stesse condizioni 20 ml di soluzione (5.1) con nitrato di argento (3.3).

Se il prodotto contiene derivati del bromo o dello iodio capaci di liberare bromuri e ioduri dopo riduzione, la curva di titolazione avrà vari punti di flesso. In questo caso, il volume della soluzione di $Ag\ NO_3$ (3.3) corrispondente al cloruro è rappresentato dalla differenza dei volumi corrispondenti all'ultimo e penultimo punto di flesso. Per confermare i risultati si può aggiungere una quantità nota di cloruro e verificare l'effetto di tale aggiunta sulla curva di titolazione.

6. CALCOLO

Il tenore in clorato del campione (% m/m) è calcolato secondo la seguenta formula:

$$\%\ \text{clorato m/m} = \frac{20{,}9\,(V - V')\,M}{m}$$

dove:

V = volume in ml della soluzione di argento nitrato utilizzata per titolare la soluzione (5.2);
V' = volume in ml della soluzione di argento nitrato utilizzata per titolare la soluzione (5.1);
M = molarità della soluzione di argento nitrato;
m = massa in g del campione (5.1).

7. RIPETIBILITÀ [1]

Per un contenuto di clorato compreso tra il 3 ed il 5 % (m/m), la differenza fra i risultati di due determinazioni effettuate in parallelo sullo stesso campione non deve superare 0,07 % m/m.

[1] Secondo la norma ISO 5725.

XXVII. IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DELLO IODATO DI SODIO

SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo descrive il procedimento per idendificare e dosare estratti acquosi di prodotti cosmetici contenenti iodato di sodio.

A. IDENTIFICAZIONE

1. PRINCIPIO

Lo iodato di sodio è separato dagli altri derivati alogenati per cromatografia su strato sottile ed identificato per ossidazione dello ioduro o iodio.

2. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

2.1. Soluzioni di riferimento: Soluzioni acquose di potassio clorato, bromato e iodato (0,01 % m/v) preparata di recente.

2.2. Fase mobile: Soluzione di ammonio idrossido (28 % m/v)/Acetone/Butanolo (60 : 130 : 30 v/v/v).

2.3. Soluzione acquosa di potassio ioduro (5 % m/v).

2.4. Salda d'amido (dall'1 al 5 % m/v).

2.5. Acido cloridrico M.

3. APPARECCHIATURA

3.1. Lastrine per cromatografia su strato sottile di cellulosa di 0,25 mm di spessore.

3.2. Attrezzatura normale per cromatografia su strato sottile.

4. PROCEDIMENTO

4.1. Estrarre 1 g di campione circa con acqua, filtrare e diluire a 10 ml.

4.2. Depositare sulla linea di base di una lastrina (3.1) 2 µl di questa soluzione insieme ad aliquota di 2 µl di ognuno delle tre soluzioni di riferimento (2.1).

4.3. Sviluppare per tre quarti della sua lunghezza la lastrina, per cromatografia ascendente, con il solvente (2.2).

4.4. Togliere la lastrina dalla vasca e far evaporare il solvente a temperatura ambiente (questa operazione dura 2 ore circa).

4.5. Spruzzare la lastrina con soluzione di potassio ioduro (2.3) e far asciugare per circa 5 minuti.

4.6. Spruzzare con la soluzione di salda d'amido (2.4) e lasciare asciugare per circa 5 minuti.

4.7. Infine spruzzare con acido cloridrico (2.5).

5. VALUTAZIONE

Se lo iodato è presente, una macchia blu (il colore può essere bruno o diventare bruno con il tempo) apparira immediatamente con un valore di Rf approssimativamente tra 0 e 0,2.

Notare che i bromati reagiscono immediatamente con un Rf di 0,5-0,6 ed i clorati dopo 30 minuti circa con un Rf di 0,7-0,8.

B. DETERMINAZIONE

1. DEFINIZIONE

Il contenuto in sodio iodato determinato con questo metodo è espresso come percentuale di massa.

2. PRINCIPIO

Il sodio iodato è solubilizzato in acqua e determinato per mezzo della cromatografia liquida ad alta prestazione, usando in serie una colonna a fase inversa C_{18} ed una colonna a scambio anionico.

3. REATTIVI

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica e idonei per la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC).

3.1. Acido cloridrico 4 M.

3.2. Soluzione di sodio solfito 5 % m/v.

3.3. Soluzione di sodio iodato : preparare una soluzione contenente 50 mg di sodio iodato in 100 ml di acqua.

3.4. Fosfato acido di potassio.

3.5. Fosfato bisodico 2 H_2O.

3.6. Fase mobile per HPLC : solubilizzare in un litro di acqua 3,88 g di fosfato acido di potassio (3.4) e 1,19 g di fosfato bisodico (3.5).

Il pH deve essere uguale a 6,2.

3.7. Cartine indicatrici universali pH 1-11.

4. APPARECCHIATURA

Normale apparecchiatura di laboratorio.

4.1. Filtri di carta rotondi, diamentro 110 mm Schleider e Schull n. 575 o equivalenti.

4.2. Cromatografo liquido ad alta risoluzione con detector a lunghezza d'onda variabile.

4.3. Colonna : lunghezza 120 mm, diametro interno 4,6 mm, numero : due, messe in serie, prima colonna riempita con Nucleosil[R] 5 C_{18} o equivalente, la seconda con Vydac [TM]-301-SB, o equivalente.

5. PROCEDIMENTO

5.1. **Preparazione del campione**

5.1.1. *Campioni fluidi (Shampoos)*

Pesare accuratamente 1,0 g di campione in una provetta graduata e smerigliata da 10 ml o in un matraccio tarato. Portare a volume con acqua e mescolare. Se necessario filtrare la soluzione. Determinare lo iodato in soluzione per HPLC come descritto al punto 5.2.

5.1.2. *Campioni solidi (Saponi)*

Suddividere finemente una porzione del campione e pesarne accuratamente circa 1 g in un cilindro graduato da 100 ml con tappo a smeriglio. Portare a 50 ml con H_2O ed agitare energicamente per 1 minuto. Centrifugare e filtrare su carta (4.1) o lasciare a riposo la sospensione per almeno una notte. Agitare la sospensione vigorosamente e filtrare su carta (4.2).

Determinare lo iodato nel filtrato per HPLC come descritto al punto 5.2.

5.2. **Cromatografia**

Flusso della fase mobile : 1 ml/min.

Lunghezza d'onda del detector (4.2) : 210 nm.

Volume iniettato : 10 µl.

Misurare le aree dei picchi.

5.3. **Taratura**

Prelevare rispettivamente 1,0, 2,0, 5,0, 10,0 e 20,0 ml della soluzione di sodio iodato (3.3) in matracci tarati da 50 ml. Portare a volume e mescolare. Le soluzioni così ottenute contengono 0,01, 0,02, 0,05, 0,10 e 0,20 mg/ml di sodio iodato.

Iniettare 10 µl di ogni soluzione standard di sodio iodato nel cromatografo (4.3). Determinare ciascuna area dei picchi corrispondenti allo iodato e riportarle su un grafico in relazione alle concentrazioni.

6. CALCOLO

Calcolare il contenuto in sodio iodato come percentuale di massa (% m/m) usando la seguente formula :

$$\% \text{ (m/m) di sodio iodato} = \frac{Vc}{10\ m}$$

dove :

m = massa in grammi del campione prelevato (5.1);

V = volume totale della soluzione campione in millimetri, ottenuta come descritto al punto (5.1);

c = concentrazione in mg di sodio iodato ottenuta dalla curva di taratura (5.3).

7. RIPETIBILITA (¹)

Per un tenore in sodio iodato pari allo 0,1 % (m/m) la differenza fra i risultati di due determinazioni condotte in parallelo sullo stesso campione non deve superare lo 0,002 %.

8. CONFERMA

8.1. **Principio**

In una soluzione acidificata di prodotto cosmetico, lo iodato è ridotto a ioduro per mezzo del solfito e la soluzione ottenuta è esaminata per HPLC. Se dopo trattamento con solfito un picco con il tempo di ritenzione dello iodato scompare, si può ragionevolmente attribuire il picco originale allo iodato.

8.2. **Procedimento**

Pipettare 5 ml di soluzione ottenuta al punto 5.1 in un recipiente a fondo conico. Portare il pH della soluzione a un valore < 3 con acido cloridrico (3.1); controllare con la cartina (3.7). Aggiungere 3 gocce di soluzione di sodio solfito (3.2) e mescolare. Iniettare 10 µl di soluzione nel cromatografo (4.2). Confrontare il cromatogramma con quello ottenuto al punto 5 per il medesimo campione.

(¹) Secondo la norma ISO 5725.

86A10204

GIUSEPPE MARZIALE, *direttore*

DINO EGIDIO MARTINA, *redattore*
FRANCESCO NOCITA, *vice redattore*

(8651827) Roma - Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato - S.